



Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

Nutzungsrichtlinien

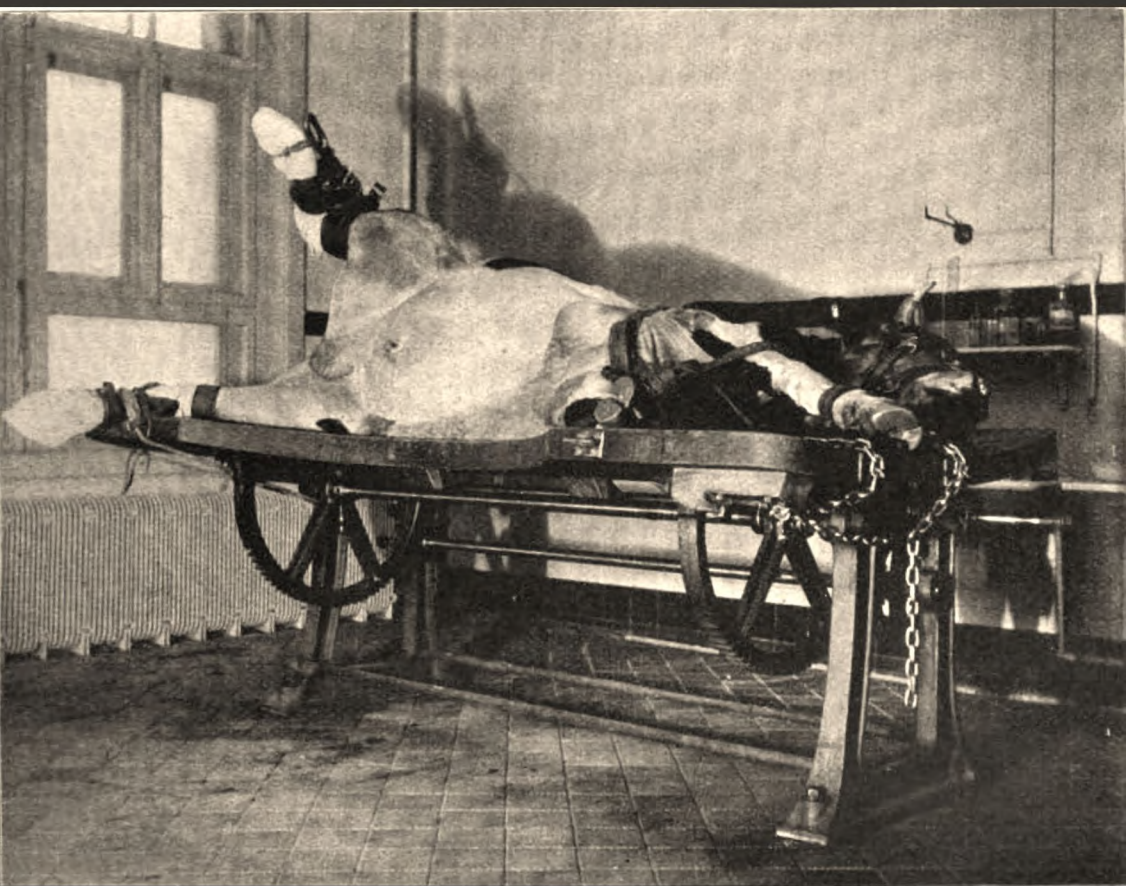
Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

- + *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.
- + *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.
- + *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.
- + *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter <http://books.google.com> durchsuchen.



*Centralblatt für Bakteriologie,
Parasitenkunde und ...*



THE LIBRARY
OF
THE UNIVERSITY
OF CALIFORNIA
DAVIS

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Erste Abteilung. XXXVII. Band.

Originale.

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit

Geh. Med.-Rat Professor Dr. Loeffler
in Greifswald,

Professor Dr. R. Pfeiffer
in Königsberg

und

Staatsrat Professor Dr. M. Braun
in Königsberg

herausgegeben von

Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin.

Erste Abteilung. XXXVII. Band.
Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde.

Originale.

Mit 14 Tafeln und 47 Abbildungen im Texte.

J e n a ,
Verlag von Gustav Fischer.

1904.

**UNIVERSITY OF CALIFORNIA
LIBRARY**

Digitized by Google
DAVIS

*Nachdruck verboten.***Toxines et Antitoxines.****Le poison diphtérique.**

[Travail de l'Institut sérothérapique de l'Etat Danois, Copenhague.]

Par Svante Arrhenius et Thorvald Madsen.

(Schluß.)

L'affaiblissement des poisons avec le temps.

Les trois poisons examinés sont affaiblis avec le temps, ainsi que c'est généralement le cas pour le poison diphtérique. Quant au poison C, on ne le voit pas.

Sa dose mortelle était comme suit.

7 sept. à 18 oct. 1898	D. M.	= 0,00864	ccm
16--23 nov. 1898	"	= 0,01073	"
13 jan. 1899	"	= 0,00861	"

Le temps d'expérience ne comprend qu'un peu plus de trois mois; la variation est donc trop petite pour être dûment constatée. — On est sans doute dans le vrai en prenant une moyenne des deux dernières déterminations comme valable au milieu de déc. 1898; suivant ce mode de calcul, un affaiblissement d'env. 12 pour cent se serait fait valoir pendant les trois premiers mois.

Le lent affaiblissement du poison se fait plus valoir pour le poison A qui offre les valeurs suivantes de la dose mortelle:

20 oct. 1897	D. L.	= 0,07	ccm	Toxicité = (100)
4 jan. 1898	"	= 0,0962	"	" = (72,8)
11 may 1898	"	= 0,1123	"	" = (62,3)
27 août 1898	"	= 0,145	"	" = (48,3)
13 sept. 1898	"	= 0,1485	"	" = (47,1)
17 oct. 1898	"	= 0,2	"	" = (35,0)

La force diminue probablement d'après les lois valables pour une vitesse de réaction monomoléculaire.

L'affaiblissement toxique était prononcé aussi pour le poison No. 471.

En voici les valeurs:

28 oct. à 7 nov.	1901	D. L.	0,00211	ccm	(100)
6 jan. à 20 jan.	1902	"	0,00222	"	(95)
11 févr. à 5 march	1902	"	0,00238	"	(88,7)
19 juin	1902	"	0,00353	"	(59,8)
28 oct. à 15 nov.	1902	"	0,00349	"	(60,5)
19 juin à 25 juillet	1903	"	0,00543	"	(38,8)
5 sept. à 17 sept.	1903	"	0,00467	"	(45,1)
10 dec.	1903	"	0,00472	"	(44,7)

Il est remarquable que quant à ce poison, le mieux observé entre tous les poisons, on observe un décroissement de la dose mortelle au bout de l'été de sorte qu'il subit un minimum de toxicité pendant cette saison. Ce n'est peut-être qu'une chose apparente provenant de la température favorable à la force de résistance de l'animal. Il a été démontré ailleurs que la régulation de la chaleur chez les cobayes empoisonnés par la toxine diphtérique est compromise de sorte que leur température dépend en partie du milieu ambiant¹⁾. Comme on le voit

1) Madsen, Zur Biologie des Diphtheriebacillus. (Zeitschr. f. Hygiene etc. Bd. XXVI. 1897.)

des tableaux, il ne faut attacher que peu d'importance aux observations peu nombreuses du 19 juillet 1902.

Il est possible que cette observation que le poison plus fort No. 471 s'affaiblit (environ du double) plus lentement que le poison A, repose sur une règle générale. Mais il serait sans doute trop tôt de l'affirmer en s'appuyant sur cet exemple isolé.

Étude du poison par la neutralisation partielle.

Pour le poison C, il n'existe qu'une seule série d'essais de neutralisation, entrepris le 18 juillet à 18 octobre 1898. Comme nous l'avons dit, il faut multiplier toutes les valeurs du tableau VI par 6. On peut encore, puisque ici il ne s'agit que de valeurs relatives, diviser la dose mortelle du poison par 6; nous obtenons ainsi la valeur 14,4, insérée au tableau VI comme valeur de la dose mortelle pour le poison pur C. La valeur inverse de la dose mortelle indique la toxicité du poison. On l'a appelée T dans les tableaux suivants. Ce tableau contient encore les valeurs relatives de la toxicité, la toxicité du poison pur étant posée égal à 100 (colonne R. T.). $D. m. = 1/T$ est la valeur insérée dans les tableaux I—VI. T_0 est la valeur de T correspondant à $n=0$. A côté de la colonne R. T. contenant les valeurs observées, se trouve une colonne avec des valeurs calculées selon la formule valable pour la tétanolsine (loi de Guldberg-Waage) qui, en ce cas prend la forme ci-après.

$$\frac{1}{T_0} \left(np \frac{1}{T} - \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_0} \right) \right) = K \left(\frac{1}{T} - \frac{1}{T_0} \right)^p$$

où n indique la quantité d'antitoxine en fractions d'une unité immunisante. Pour le poison C, nous trouvons $p=1,667$, et $K=0,004$; p indique combien d'équivalents sont contenus dans une unité immunisante, si l'on prend pour unité la quantité de toxine employée. np indique la proportion entre le nombre d'équivalents d'antitoxine et toxine, dans l'expérience en question.

Neutralisation du poison C.

n	np	T	R. T. obs.	R. T. calc.
0	0	115,7	100	100
0,15	0,25	87,7	75,7	75,0
0,25	0,417	61,7	53,2	58,4
0,35	0,583	55,5	47,9	42,0
0,5	0,833	18,9	16,5	19,0
0,55	0,917	16,7	14,4	11,1
0,6	1,00	6,7	5,8	6,0
0,65	1,092	4,1	3,5	3,3
0,67	1,117	1,6	1,4	2,8
0,7	1,167	2,1	1,8	2,1
0,72	1,2	1,7	1,4	1,8
0,75	1,25	0,8	0,7	1,6
0,9	1,5	0,7	0,6	0,8

La concordance des nombres observés et calculés est très satisfaisante. La valeur $p=1,667$ indique que 0,6 d'unités immunisantes sont équivalentes à 0,6 ccm de toxine. 0,6 unités immunisantes correspondent donc en ce cas à $= 69,4$, puisque chaque ccm du poison pur contient 115,7 D. m., et une unité immunisante est équivalente à 115,7 D. m. du poison.

Si l'on compare ce calcul à celui donné antérieurement pour le

poison C¹⁾, on voit que les déterminations pour $n=0, 0,15$ et $0,25$ qui par la méthode autrefois employé donnaient les mêmes valeurs, donne par notre méthode plus détaillée des valeurs uniformément décroissantes. Tandis que pour p , on obtenait des chiffres presque concordants (1,667 contre 1,8 d'autrefois) notre méthode donne pour K , autrefois $=0,012$ une valeur moindre, $0,004$.

La courbe de saturation ne s'écarte donc pas essentiellement d'une ligne droite que quand on ajoute beaucoup d'antitoxine. Encore en ajoutant $0,833$ de la quantité équivalente d'antitoxine, on obtient une valeur (calculée) de R. T. (19,0) qui, en dedans des fautes d'expérience, s'accorde avec la valeur (16,7) valable si K serait $=0$. Si l'on ajoute une quantité équivalente d'antitoxine ($np=1$) à la toxine employé on trouve encore 6% de toxine libre au lieu de 0 , qui correspondrait à $K=0$.

La toxicité ne s'abaisse au dessous de 1% de la première valeur que si l'on ajoute presque $1,4$ fois la quantité équivalente d'antitoxine.

Comme pendant à ce poison, mais ayant une constante de dissociation relativement élevée, on peut citer le poison A. Les déterminations ont été faites du 27 août au 13 sept. 1898. Les valeurs calculées correspondent à $p=1,667$ et $K=0,03$.

Neutralisation du poison A.

n	np	T	R.T. obs.	R.T. calc.
0	0	6,73	100,0	100,0
0,05	0,083	5,01	74,4	91,7
0,125	0,208	4,18	62,0	79,1
0,15	0,25	4,76	70,8	75,4
0,25	0,416	4,33	64,3	59,3
0,3	0,5	3,40	50,5	51,4
0,35	0,583	2,83	42,1	44,0
0,4	0,667	2,51	37,2	36,6
0,45	0,75	2,12	31,6	29,5
0,5	0,833	1,64	24,4	24,1
0,6	1,00	1,00	14,9	14,9
0,625	1,041	0,98	14,5	13,5
0,672	1,12	0,72	10,7	10,8
0,72	1,20	0,58	8,7	9,1
0,785	1,31	0,33	4,9	6,9

En ce cas, l'accord est très bon, abstraction faite de déterminations à peu d'antitoxine où la toxicité observée est considérablement plus petite que celle calculée. Si la valeur pour $n=0$ n'était pas assez exactement déterminée (35 observations) on devrait, selon Ehrlich, s'attendre à la présence d'une „zone de prototoxoides“ allant de $n=0$ à $n=0,25$, puisqu'ici la toxicité, en dedans des fautes d'observations, reste constante. Mais, tout comme dans d'autres cas déjà nommés, la valeur de la toxicité du poison pur exclut toute possibilité d'admettre l'existence d'une telle zone de prototoxoides.

Au cas présent, la constante de dissociation, K , est considérablement, $7,5$ fois, plus grande que dans le cas précédent, et l'écart de la courbe de neutralisation d'une ligne droite est très bien marqué. Déjà en ajoutant $\frac{3}{4}$ de la dose équivalente ($np=0,75$) ou pour $K=0$,

1) Madsen, l. c.

R.T, devait être 25; sa valeur monte à 29,5; et si $np = 0,833$, les deux chiffres sont aussi différents que 16,7 et 24,1. En ajoutant une quantité équivalente d'antitoxine, on voit qu'encore 14,9% du poison restent libres et pour neutraliser le poison jusqu'à 1%, il faut ajouter 3,93 équivalents (au lieu de 0,99, si nulle dissociation n'aurait lieu).

Une position intermédiaire entre ces deux poisons est occupée par le poison No. 471. Quant à cette toxine, il existe 4 séries d'expériences, la première de févr. 1902, alors que le poison était presque frais, la deuxième de mars 1902, alors qu'on employait comme antitoxine du sérum normal de cheval dont la force antitoxique avait été déterminée par comparaison avec celle du test-sérum. La troisième série fut exécutée en novembre 1902, quand la force du poison s'était abaissée à $\frac{2}{3}$ de ce qu'elle était lors des deux premières séries d'expériences. La dernière série est de sept. 1903 quand la toxicité du poison n'était plus de la moitié de la première. Les déterminations directes de la constante de dissociation pour ces quatre cas donnèrent ces valeurs $K = 0,015^1$, $K = 0,010$, $K = 0,012$ et $K = 0,0126$. Elles s'approchent tant qu'on peut se servir d'une valeur moyenne. Pour les calculs nous avons adopté la valeur $K = 0,0122$.

De plus, les deux premières et la dernière série donnèrent conformément $p = 2,5$, tandis que celles de nov. 1902 exigent $p = 2,25$. Ainsi p , en févr. 1902, et en sept. 1903, a la même valeur, ce qui démontre que 0,1 ccm du poison est, dans les deux cas, équivalent à la même quantité d'antitoxine, à savoir 0,4 de l'unité immunisante.

Le pouvoir fixateur de la toxine diphtérique est donc — en dedans des fautes d'expérience, en ce cas ne montant pas sans doute au-dessus de 2 à 3% — la même dans les deux cas, bien que la toxicité soit moitié moindre au dernier cas qu'au premier, et la constante de dissociation gardait de même tout le temps la même valeur, en dedans des fautes d'expérience.

Ceci rappelle à un haut degré les phénomènes offerts par la tétanolyse qui gardée en solution de 2%, perdit en 4—5 jours sa toxicité à 17% près, tandis que son pouvoir fixateur d'antitoxine ne changea pas, et que la constante de dissociation s'accrut très peu (de 50%).

L'expérience démontre que le poison s'affaiblit graduellement et se change en un produit atoxique tandis que, toutefois, la constante de dissociation et la force fixatrice d'antitoxine demeurent intactes. Ceci correspond selon la nomenclature de M. Ehrlich à la formation d'un syntoxoïde. Mais, pour qu'il y ait équilibre, il faut que, même après le changement, la réaction entre la toxine et l'antitoxine soit à peu près de la même espèce que celle qui a lieu entre un acide et un alcool, avec formation d'éther et de l'eau. L'alcool doit être d'une espèce distincte, par ex. alcool éthylique, l'acide au contraire doit être variable mais toujours de façon à ce que la constante d'équilibre K dans la formule:

$$C_{\text{Acide}} \cdot C_{\text{Alcool}} = K \cdot C_{\text{Éther}} \cdot C_{\text{H}_2\text{O}}$$

garde invariablement la même valeur. Les C 's doivent indiquer qu'il s'agit ici de la concentration des corps en réaction.

Si, en ce cas, j'augmente tous les C dans la même proportion (n) — alors l'équilibre sera constant. Supposé qu'un système en équilibre

1) Par la méthode ancienne, K était, pour la première série = 0,015; $p = 2,7$.

et où l'acide A entre à la concentration C_A soit mélangé avec un système où l'acide B entre à la concentration C_B , et où toutes les concentrations sont $C_B : C_A$ fois plus grandes qu'au cas précédent, nous aurons pour le mélange ces équations:

$$C_A \cdot C_{\text{Alc}} = K \cdot C_{\text{Ether}} \cdot C_{\text{H}_2\text{O}} \text{ et } C_B \cdot \frac{C_B}{C_A} \cdot C_{\text{Alc}} = K \cdot \frac{C_B}{C_A} \cdot C_{\text{Ether}} \cdot \frac{C_B}{C_A} \cdot C_{\text{H}_2\text{O}}$$

et si les deux systèmes sont mélangés dans le même volume

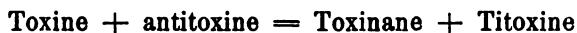
$$C_A \left(1 + \frac{C_B}{C_A}\right) C_{\text{Alc}} = K \cdot C_{\text{Ether}} \left(1 + \frac{C_B}{C_A}\right) C_{\text{H}_2\text{O}} \text{ et } C_B \left(1 + \frac{C_B}{C_A}\right) C_{\text{Alc}} = K \cdot \frac{C_B}{C_A} \cdot C_{\text{Ether}} \left(1 + \frac{C_B}{C_A}\right) C_{\text{H}_2\text{O}}.$$

Il est évident que l'équilibre ne change pas par le mélange des deux systèmes puisqu'on obtient les anciennes équations en éliminant par division de tous les membres le facteur

$$\left(1 + \frac{C_B}{C_A}\right) \text{ resp. } \left(1 + \frac{C_A}{C_B}\right).$$

Les conditions dans lesquelles cet équilibre aura lieu, c'est que le corps commun dans le membre gauche des deux systèmes (l'alcool) entre avec autant de molécules c. à d. à la même puissance dans l'équation de réaction que le corps (H_2O) commun dans le membre droit. De plus, pour obtenir l'équilibre d'un système où toutes les concentrations sont n. fois plus grandes que dans le premier système, supposé en équilibre, il faut que le nombre total de molécules d'un côté soit égal au nombre total de molécules de l'autre. En d'autres termes, pour chaque molécule d'acide qui disparaît, il faut qu'il se forme une molécule d'éther.

On peut raisonner de même pour la combinaison de la toxine avec l'antitoxine. Par là, deux corps devraient se former selon le schéma suivant:



et de même pour le toxoïde se formant par le changement de la toxine:



Les calculs montrent que dans cette réaction une molécule d'antitoxine se change en deux molécules, dont une de titoxine. Ainsi il faut qu'il se forme une molécule de toxinane ou toxoïdane pour chaque molécule d'antitoxine qui disparaît. Cela est nécessaire parce que la même équation d'équilibre reste valable pour des concentrations très différentes de toxoïde — sa concentration est dans les premières expériences presque $\frac{1}{8}$ de la concentration du poison²⁾, et dans les dernières, 1,25 fois la concentration du poison. Cette dernière est à peu près constante, puisqu'on emploie toujours à peu près la dose mortelle. En d'autres termes, l'équilibre reste le même, bien que la concentration du toxoïde varie

1) Les dénominations introduites ont été choisies pour des raisons mémoriques.

2) On suppose ici — d'accord avec la manière de voir usuelle qu'il n'y a pas de toxoïde dans le poison frais. Cette supposition est la plus simple possible, mais elle n'est pas nécessaire.

dans la proportion 1 : 10. Il s'ensuit donc que pour toute molécule de toxoïde qui disparaît il se forme une molécule de toxoïdane.

Strictement parlant, quant à la toxine, cette manière de voir ne saura être absolument maintenue, puisque la concentration du toxine ne varie pas dans les expériences, mais reste presque constant, et si une constante est élevée à une puissance quelconque, le résultat reste une constante. Mais si l'on suppose p. e. qu'une quantité appréciable des molécules de toxine était polymérisée (relativement aux molécules de toxoïdes, regardés comme simples), la constante d'équilibre K, prise comme valable seulement pour les molécules simples ne serait la même pour la toxine que pour le toxoïde, et il serait un hasard extrêmement curieux que K fût le même dans les deux cas, si d'un côté on calculait avec le nombre total de molécules de toxine (et simples et polymérisées), et de l'autre côté, seulement avec les molécules simples de toxoïde. Il est donc bien probable que la supposition la plus simple à savoir qu'une molécule de toxine est équivalent à une molécule de toxoïde c. à. d. réagit avec une molécule d'antitoxine, soit la vraie.

Dans un cas, concernant la série d'expériences de nov. 1902, p montra une valeur moins élevée, 2,25, que dans les autres cas, où p était 2,5. La différence semble trop grande pour s'expliquer par des erreurs d'expérience. Il faut presque croire que l'antitoxine utilisée dans cette expérience était un peu — 10% plus faible que l'antitoxine employée pour les autres observations.

Après ces remarques nous donnons les données pour le poison No. 471.

Neutralisation du poison No. 471 avec Testsérum d'Ehrlich.

Févr. 1902.

p = 2,5, K = 0,0122.

n	np	T	R.T. obs.	R.T. calc.
0	0	420,0	100,0	100,0
0,05	0,125	313,0	74,4	87,5
0,1	0,25	306,0	72,8	75,1
0,15	0,375	342,0	57,6	62,7
0,2	0,5	209,0	49,8	50,6
0,25	0,625	135,0	32,2	38,6
0,3	0,75	118,0	28,0	27,3
0,35	0,875	72,5	17,2	17,5
0,4	1,00	46,5	11,1	9,9
0,45	1,125	22,5	5,6	6,0
0,5	1,25	5,0	1,2	4,1

Neutralisation du poison No. 471 avec sérum normal.

18 mars 1902.

p = 2,5, K = 0,0122.

n	np	T	R.T. obs.	R.T. calc.
0	0	420,0	100,0	100,0
0,075	0,1875	397,0	95,2	81,3
0,15	0,375	236,0	56,3	62,8
0,225	0,5625	193,0	46,0	44,7
0,3	0,75	114,0	27,2	27,3
0,375	0,9325	41,7	9,9	12,3
0,45	1,125	21,5	5,1	6,0
0,6	1,5	8,9	2,1	2,3
0,675	1,6875	4,0	1,0	1,7
0,75	1,875	3,5	0,8	1,4

Neutralisation du poison No. 471 avec Testsérum d'Ehrlich.

Nov. 1902.

$$p = 2,25, K = 0,0122.$$

n	np	T	R.T. obs.	R.T. calc.
0	0	286,0	100,0	100,0
0,06	0,135	227,0	79,3	86,5
0,12	0,27	218,0	76,0	73,2
0,18	0,405	189,0	64,7	59,8
0,24	0,54	146,0	50,9	46,6
0,30	0,675	112,0	39,1	34,0
0,36	0,81	66,0	23,1	22,4
0,40	0,9	42,6	14,8	15,7
0,48	1,08	23,8	8,3	7,0
0,54	1,215	7,1	2,5	4,5
0,60	1,35	7,3	2,6	3,0

Neutralisation du poison No. 471 avec Testsérum d'Ehrlich.

Septbr. 1903.

$$p = 2,5, K = 0,0122.$$

n	np	T	R.T. obs.	R.T. calc.
0	0	214,0	100,0	100,0
0,1	0,25	161,0	75,1	75,1
0,15	0,375	134,0	62,6	62,7
0,2	0,50	102,0	47,6	50,6
0,25	0,625	98,0	45,8	38,6
0,3	0,75	55,5	25,9	27,3
0,35	0,875	37,0	17,3	17,5
0,4	1,00	20,6	9,6	9,9
0,45	1,125	11,4	5,3	6,0
0,5	1,25	6,6	3,1	4,1
0,6	1,5	3,5	1,6	2,6

L'accord entre les valeurs observées et calculées est remarquablement bon. Il est surtout très prononcé dans les séries de mars 1902 et de sept. 1903, bien qu'on n'ait employé qu'un nombre comparative-ment petit d'observations pour calculer la moyenne. Dans ce cas ni non plus, les observations ne font soupçonner l'existence d'un proto-toxoïde. Ce produit de transformation devrait surtout se trouver dans les poisons gardés depuis longtemps. On s'attendrait donc surtout à le rencontrer dans la dernière détermination de sept. 1902. En nov. 1902, l'évaluation de la dose minima mortelle d'après la méthode pratiquée jusqu'à présent, jointe à quelque irrégularité dans les déterminations pour de petites valeurs de n , avaient fait supposer l'existence du proto-toxoïde¹⁾. Mais par l'observation entreprise dix mois plus tard, quand la toxicité avait ultérieurement diminuée, une évaluation des données obtenus montrait, même d'après l'ancienne méthode, une courbe d'une marche tout à fait égale. Et un hasard bizarre fait que l'accord entre l'observation et le calcul (suivant le nouveau procédé), est, en ce cas, bien meilleur que dans les autres cas, pour les petites valeurs de n , là où les prototoxoïdes devraient se faire valoir. Même les autres recherches ne font soupçonner la présence de prototoxoïdes. Sans doute, le poison frais 471 (févr. 1902) présente la même particularité que le

1) l. c.

poison assez vieux A, à savoir que, pour les valeurs peu élevées de n , les valeurs R.T. sont au dessus des calculées, ce qui pourrait s'interpréter comme un indice de la présence du prototoxoïde, si la valeur de $n = 0$ ne s'y opposait. Mais, d'autre part, on pourra objecter que le poison 471 donne à l'examination en mars 1903, une valeur de T beaucoup trop élevée pour la teneur en antitoxine la plus basse, tout à fait comme, à l'examination en nov. 1902, alors que la teneur en prototoxoïde aurait dû s'agrandir, il donna généralement des valeurs observées trop élevées pour T, correspondantes à de petites valeurs de np , abstraction faite de l'exception pour $np = 0,135$.

Nous sommes donc amenés à la conclusion suivante quant à l'existence du prototoxoïde: dans tous les cas présent, cette supposition devient impossible, à cause de la valeur élevée de T, pour $n = 0$. Dans le poison le plus vieux (471 sept. 1903), la courbe n'indique aucune trace de prototoxoïde. Les cas où, peut-être — abstraction faite des autres circonstances — on pouvait rechercher la formation d'un prototoxoïde, à cause des valeurs trop basses de T, quand np est petit, sont valables pour le poison 471 en févr. 1902, et pour le poison A. Le premier était presque frais, le dernier âgé de 6 mois, et une examination provisoire avait fait supposer l'existence de prototoxoïde dans le dernier, mais non dans le premier. Ces cas sont contrebalancés par ceux (poison 471 mars et nov. 1902) où les valeurs de T observées sont généralement trop grandes pour de petites valeurs de np . Assez singulièrement, ces deux derniers cas semblent indiquer la présence de prototoxoïde, conformément à la méthode ancienne de calculation.

Nous arrivons donc à ce résultat qu'il ne se trouve pas de prototoxoïdes dans les poisons diphtériques examinés par nous, et cette conclusion nous semble d'autant plus convaincante que nous avons intentionnellement examiné des poisons où l'on devait s'attendre à trouver, selon la méthode ancienne, des quantités considérables de prototoxoïdes. Nous croyons aussi pouvoir supposer que les autres cas où l'on avait cru constater la présence de prototoxoïdes, n'en offriront pas, si l'on les examinera de plus près. Il serait beaucoup à désirer que de tels cas fussent étudiés suivant des méthodes exactes. Les cas où l'on croyait constater la présence de prototoxoïdes dans d'autres poisons que le poison diphtérique concernent la tétanolysine, selon les recherches de Madsen et le venin selon les expériences de Myers. Mais une examination détaillée de la tétanolysine faite par nous ne nous fit découvrir aucun prototoxoïde. En examinant de plus près les données de Myers on peut interpréter les prototoxoïdes constatés par lui, comme dûs aux fautes d'expérience. Des recherches sur la ricine¹⁾ et la présure, semblent indiquer des faits analogues à ceux qui ont fait introduire la notion du prototoxoïde. On découvre toutefois que ces faits particuliers dépendent de hasards incalculables qui cependant ne sont pas du tout favorables à cette supposition que des prototoxoïdes existent réellement dans ces cas.

Une déviation des lois simples se trouve aussi quant aux valeurs élevées de n , en ce que la toxicité observée de ces cas est généralement moins haute que celle calculée. Chaque cas isolé est en soi-même de peu d'importance puisque les moyennes sont déduites de chiffres

1) Madsen et Walbum, De la ricine et de l'antiricine. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI. 1904. p. 242.)

comparativement peu nombreux et incertains. Tous ensemble présentent un écart dans le sens mentionné. Après tout, il n'est pas trop remarquable de rencontrer une telle déviation dans les concentrations assez élevées de toxine avec antitoxine. Les corps étrangers, surtout les protéïdes, qui existent dans cette préparation, pourront peut-être exercer, quant aux concentrations élevées, une influence perturbante, affaiblissant la toxicité. — Du reste, ces écarts, comme on l'a dit avec plus de détails dans le mémoire cité du *Centralblatt*, peuvent dépendre d'un décroissement de la vitesse de réaction, par la présence d'une grande quantité d'antitoxine (l. c. p. 638).

Ces écarts sont trop peu importants pour faire supposer l'existence d'une substance toxique spéciale, les toxones de M. Ehrlich, afin de les expliquer. Cette notion fut introduite par Ehrlich pour expliquer que la courbe de neutralisation ne se laisse pas figurer (avec une exactitude approximative), à l'aide d'une ou de deux lignes droites. Ce motif disparaît entièrement, comme nous l'avons déjà dit¹⁾, et les recherches ultérieures ne sont venues à l'appui de l'existence des toxones²⁾. Du reste, la perturbation en question se fait valoir à un degré encore plus élevé, si par une augmentation des doses de ces mélanges à teneur très forte d'antitoxine et de toxine, l'on tente d'obtenir un effet mortel sur les animaux d'expérience, essais qui, régulièrement, ont échoué.

Si la constante de dissociation était 0, la courbe de neutralisation serait une ligne droite coupant l'axe de l'abscisse à la distance $1/p$ (pour le poison 471, $1/p = 0,4$, pour le poison A et C, $1/p = 0,6$) de l'axe des ordonnées. np ne serait alors au-dessus de 1, supposé que l'on voudrait chercher les effets du poison libre. — Pour np 1, cependant, l'écart des lois simples ne se fait pas encore sentir. On n'observerait donc pas, en ce cas, de „toxones“. Et, généralement parlant, il est aisé de comprendre que plus fort K est, plus prononcé sera le phénomène expliqué par la supposition des toxones.

Les recherches précédentes montrent que, pour le poison diphtérique, la constante de dissociation n'a qu'une valeur minime. Si l'on adopte comme moyenne $K = 0,0122$, on trouvera qu'en ajoutant un équivalent d'antitoxine, la saturation sera complète à 10 % près; en ajoutant 1,5 d'équivalent, l'effet toxique se réduit à 2,2 %, et avec deux équivalents, il devient 1,1 %. Ajoutez à cela que par la perturbation précitée l'affaiblissement devient encore plus forte par l'addition de doses élevées d'antitoxine. Or, si la marche de la courbe de saturation était parfaitement rectiligne, comme le présume M. Ehrlich ($K = 0$), il se produirait manifestement un point précis de neutralisation, à une addition déterminée d'antitoxine, et une faible addition de poison élè-

1) Dans la *Dtsche med. Wochenschr.* 18 févr. et 25 févr. d. c. a., v. Dungern a publié une série d'expériences prouvant, suivant lui, que le poison diphtérique est constitué par plusieurs composants. Il est difficile de se former une idée exacte de la portée de ces expériences, et parce que la grandeur des fautes d'expérience n'est pas indiquée, bien qu'étant, in ce cas, de la plus grande importance, et parce qu'il manque une analyse des rapports de neutralisation entre la toxine et l'antitoxine employées. Ici nous nous bornerons à indiquer le danger de la méthode suivie par lui, puisqu'il faudra alors supposer une substance nouvelle pour chaque nouveau phénomène (Epitoxonoïde).

Les expériences communiquées ne pourraient être utilisées pour prouver ni l'une ni l'autre manière de voir — il serait facile de les adapter à notre point de vue — mais il nous semble mieux d'attendre, jusqu'à cette question soit examinée d'une façon plus détaillée qu'elle ne l'est pour le moment.

2) *Festschrift.* l. c. p. 71.

verait la toxicité de zéro à une valeur définie. En conséquence de ce que K n'est pas égal à zéro, la toxicité aussi ne sera jamais égale à zéro, et en conséquence, l'accroissement de la toxicité ne sera ni non plus si grande relativement que pour $K = 0$. Toutefois, si K n'est pas trop grand, l'accroissement de la toxicité, en tous cas, est relativement grande pour une addition déterminée de poison, à une solution „presque saturée“ d'antitoxine. Voilà sur quoi se base la méthode pratique indiquée par Ehrlich de mesurer la force des poisons en recherchant la valeur de L_+ . Un poison ($K = 0,0122$) est-il additionné de 1,17 équivalents d'antitoxine, il gardera 5 % de sa force, indépendamment de son âge et de son affaiblissement. Augmente-t-on la quantité de poison de 8 %, le calcul montre que la toxicité s'aggrandit dans la proportion 5 : 7,7, c. à d. de non moins de 54 %. En supposant que L_+ survient à cette valeur, il faut prendre du poison frais $L_+ = 1,08$ fois la quantité de poison donnée. Si le poison est à moitié affaibli, le calcul montre que L_+ sera à peu près 1,22 fois la quantité de poison donnée, c. à d., tandis que la dose mortelle du poison augmente du 100 %, L_+ ne s'est accru que d'env. 13 %. L_+ a donc une certaine stabilité comparée à la D.m., et s'adapte mieux que cette dernière au dosage rigoureux du poison. Mais on croirait à tort que L_+ reste constante : au contraire les recherches de notre Institut¹⁾ montrent qu'il s'agrandit souvent, quand s'abaisse la toxicité. Ainsi, pour le poison A, L_+ s'éleva de 2,6 ccm à 3,2 ccm (c. à d. de 23 %) quand la dose mortelle variait de 0,0962 ccm à 0,1743 ccm (soit 81 %), et pour le poison C de 0,82 ccm à 1 ccm (c. à d. de 22 %).

Résumé.

Les résultats de nos recherches sur le poison diphtérique peuvent être résumés de la façon suivante :

- 1) Quant à sa neutralisation par l'antitoxine, la toxine diphtérique suit, en dedans des fautes d'expérience, la loi de Guldberg et Waage.
- 2) Sa constante de dissociation K est comparativement insignifiante ; dans les cas observés, elle varie entre 0,004 et 0,03.
- 3) Un poison qui s'affaiblit par vieillissement suit probablement la loi de la vitesse des réactions monomoléculaires.
- 4) Cette vitesse de réaction peut être très différente dans les différents cas, de sorte que la stabilité d'un poison peut être la double de celle d'un autre.
- 5) Par cet affaiblissement du poison, il ne perd pas, au commencement, d'une façon appréciable sa force fixatrice de l'antitoxine, ni ne change sa constante de dissociation.
- 6) Des indications de la présence de prototoxoïdes ne furent pas trouvées, bien que nous les ayons recherchées à dessein.
- 7) Il n'y a non plus lieu de croire à la présence de toxones ; toutefois, les solutions concentrées d'antitoxine présentent des perturbations, dues probablement à une forte baisse de la vitesse de réaction en présence des concentrations élevées d'antitoxine.
- 9) Toutes ces qualités du poison diphtérique peuvent être expliquées par les suppositions suivantes :

1) Madsen, Sur la constitution du poison diphtérique. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899.)

A. Le poison diphtérique est un poison homogène.

B. Le poison diphtérique se change lentement, d'après les lois des réactions monomoléculaires, en un corps atoxique: toxoïde.

C. Le poison diphtérique et de même le toxoïde, réagissent en quantités équivalentes¹⁾ avec de quantités égales d'antitoxine, de sorte que d'une molécule de toxine, resp. de toxoïde, et d'une molécule d'antitoxine, il se forme deux molécules, l'une d'un corps similaire dans les deux cas (appelé „titoxine“), l'autre d'un corps non identique dans les deux cas, dit „toxinane“, provenant de la toxine et du „toxoidane“ formé par le toxoïde. Comme l'antitoxine, ces produits sont atoxiques.

D. La constante d'équilibre est égale pour les deux réactions, celle de la toxine, d'un côté, et celle du toxoïde, de l'autre côté, avec l'antitoxine.

Nachdruck verboten.

Ueber die Wirkung des Sublimates bei den experimentellen Milzbrandinfektionen bei angeboren immunen Tieren.

[Aus dem Laboratorium für Parasitologie der kgl. Universität zu Turin, geleitet von Prof. E. Perroncito.]

Von Dr. Dante Calamida, Assistenten.

Die natürliche Resistenzfähigkeit der Hunde gegen die Milzbrandinfektion ist bekannt; sie kann bei erwachsenen Tieren nicht leicht beseitigt werden, welche nur ausnahmsweise infolge von Injektionen mit solchen virulenten Kulturen zu Grunde gehen.

Verschiedene Mittel wurden eronnen, um die Resistenzfähigkeit zu beseitigen (Fasten, Wasserentnahme, Phlorizininjektion), trotzdem besitzen wir, außer der Injektion in die Pleurahöhle, kein einziges sicheres Mittel zur Ueberwindung dieser Resistenzfähigkeit der Hunde.

Cadéac (1) teilte jedoch 1902 ein absolut sicheres Mittel mit, um die Hunde für Milzbrandvirus empfänglich zu machen. Dieses Mittel besteht darin, daß man $\frac{5}{10}$ mg Sublimat pro jedes Gewichtskilo des Tieres und $\frac{1}{2}$ Stunde später 4 ccm einer Milzbrandkultur von 24 Stunden Alter injiziert.

Die Dosis von $\frac{5}{10}$ mg Sublimat pro jedes Kilo ist nicht für den Hund tödlich.

Durch diese Methode sterben nach Cadéac alle Tiere an Milzbrand.

Wegen der großen Bedeutung dieser Versuche habe ich es für wichtig gehalten, dieselben zu wiederholen und, wenn möglich, zu erweitern. Ich habe nicht nur Versuche an Hunden, sondern auch an Hühnern, die bekanntlich ebenfalls gegen den Milzbrand resistenzfähig sind, angestellt.

Ich habe dafür Sorge getragen, daß die Tiere ausgewachsen waren und sich unter den besten Gesundheitsbedingungen befanden, und nach Feststellung der nicht tödlichen Maximaldosis von Sublimat injizierte ich eine halbe Stunde nach der letzteren 4 ccm Reinbouillonkultur von Milzbrand von 24 Stunden.

1) La quantité de toxoïde, formée par une quantité donnée de toxine, est ici considérée comme équivalente à celle-ci.

Hier folgen die Tabellen der ausgeführten Versuche.

Reihe I.

Versuch 1.

Hund, 18 Monate alt. Gewicht 22 kg.

Versuchstag	Injektion von Sublimat 1 ^o / _∞	Milzbrand-injektion	Bemerkungen
1. 10 Uhr Vm.	10 ccm	10,30 Uhr	Nimmt sofort nach der Operation keine Nahrung mehr auf. Temperatur 40° C. Große Anschwellung an der Injektionsstelle. Das Tier bleibt in seinem Lager liegen und nimmt keine Nahrung auf. Bessert sich allmählich und heilt.
6 „ Nm.		4 ccm Milzbrand subkutan	
2.			
3.			
8.			

Versuch 2.

Hund, 2 Jahre alt. Gewicht 22,5 kg.

Versuchstag	Sublimat-injektion	Milzbrand-injektion	Bemerkungen
1. 10,30 Uhr Vm. 11 Uhr „	10 ccm	4 ccm von virulenter Reinkultur in den Kreislauf	Das Tier zeigt kein Zeichen von Unwohlsein. Beginnt gegen Abend matt zu sein. Immer matt. Frißt nicht. Temp. 40,9° C. Temp. 41,4° C. Stirbt. Bei der Autopsie wird Milztumor festgestellt. Man erhält überaus reichliche Kulturen aus dem Blute, der Milz und den übrigen Organen.
2.			
3. 9 Uhr Vm.			
6 „ Nm.			
4. 11 „ Vm.			

Versuch 3.

Hund, 3 Jahre alt. Gewicht 19,5 kg.

Versuchstag	Sublimat-injektion	Milzbrand-injektion	Bemerkungen
1. 9 Uhr Vm. 9,30 „ „	10 ccm	4 ccm in den Kreislauf	Das Tier ist munter. Zeigt sich gegen Abend matt. Frißt nichts, bleibt liegen. Temp. 41,2° C. Starke Hypoleukocytose. Stirbt. Bei der Autopsie wird Milztumor beobachtet. Ansammlung von blutigem Serum im Perikard. Man erhält überaus reichliche positive Kulturen.
2.			
3.			
4. 10,30 Uhr Vm.			

Durch diese Versuche wird also die von Cadéac behauptete Tatsache bestätigt, daß nämlich die Milzbrandinjektion im Kreislaufe eine halbe Stunde nach jener von Sublimat in den vorher erwähnten Dosen den Hund sicherlich tötet.

Da ich ferner beobachtet hatte, daß die Tiere erhebliche Hypoleukocytose zeigten, und die von Borini (2) beobachtete Tatsache erwägend, daß das Digitalin eine Wirkung auf die Pneumokokkeninfektion

ausübt, so nahm ich mir vor, festzustellen, ob die Injektion von Digitalin (Merck) die schädliche Wirkung des Sublimats zu neutralisieren vermochte.

Ich stellte zu diesem Zweck eine Versuchsreihe an ausgewachsenen Hunden an, indem ich zunächst eine 1-promill. Sublimatlösung und dann nach einer halben Stunde einige Kubikcentimeter sehr virulenter Reinbouillonkultur von Milzbrand, 24 Stunden alt, injizierte. Eine halbe Stunde später injizierte ich eine Digitalinlösung (Merck) in dem Verhältnisse von 1 mg pro jedes Gewichtskilo des Tieres.

Nur in zwei Fällen injizierte ich das Digitalin vor der Milzbrandinjektion, um dessen Wirkung näher zu untersuchen.

Die Ergebnisse sind:

Reihe II.

Versuch 1.

Hund von 18 Monaten. Gewicht 17,5 kg.

Versuchstag	Injektion	Bemerkungen
1. 3,30 Uhr Nm.	9 ccm 1‰ Sublimatlös. intravenös	Das Tier frißt und zeigt keine Leidenszeichen.
4 Uhr „	3 ccm Milzbr. intravenös	
4,30 „ „	18 ccm Digitalin Merck unter d. Haut	
2.		Ist wohl.
3. 11 Uhr Vm.		Starke Hyperleukocytose. Temp. 39,1° C.
4. 11 „ „		Ist matt. Temp. 40,5° C.
5 „ Nm.		Temp. 40,7° C.
5. 11 „ Vm.		Sein Zustand ist immer sehr schwer, es nimmt keine Nahrung, antwortet, wenn gerufen, nicht. Temp. 41,3° C.
6. 11 „ „		Liegt fast immer, frißt nicht. Temp. 41,2° C.
5 „ Nm.		Temp. 40,1° C.
7. 11 „ Vm.		Beginnt das Futter zu kosten. Temp. 39,8° C.
5 „ Nm.		Temp. 39,9° C.
8. 11 „ Vm.		Setzt das Fressen fort und bewegt den Schwanz. Temp. 39,5° C.
5 „ Nm.		Temp. 39,4° C.
9. 11 „ Vm.		Wird noch munterer, antwortet, wenn gerufen, und frißt mit scheinbar gutem Appetit. Temp. 39° C.
5 „ Nm.		Temp. 38,9° C.

In den folgenden Tagen habe ich die Temperatur nicht mehr gemessen, weil ich sah, daß das Tier zur Heilung schritt; in der Tat war es binnen wenigen Tagen vollkommen wieder hergestellt. Bei den mit dem Blute ausgeführten wiederholten mikroskopischen und kulturellen Untersuchungen konstatierte ich niemals Mikroorganismen (s. Tabelle Versuch 2).

Bei der Autopsie wurde nur ein leichter Milztumor und spärliche Menge Perikardflüssigkeit beobachtet. Die aus den Organsäften und dem Blute gewonnenen Kulturen wiesen kräftige Entwicklung auf (s. Tabelle Versuch 3).

In den folgenden Tagen verschwand allmählich das Fieber, die Freßlust kam vollständig wieder und nach wenigen Tagen war das Tier wieder gesund (s. Tabelle Versuch 4).

Versuch 2.

Hund von ca. 1 Jahr. Gewicht 10,7 kg.

Versuchstag	Injektion	Bemerkungen
1. 3,45 Uhr Nm. 4,20 Uhr Nm. 4,45 Uhr Nm.	5 ccm Sublimat 11 ccm Digitalin 3 ccm Rein- kultur von Milzbrand	Das Tier ist ruhig und gesund.
2.		Zeigt sich frisch und munter, frisst mit gutem Appetit. Bei der mikroskopischen Untersuchung des Blutes wird deutliche Hyperleukocytose beobachtet.
3. 11 Uhr Vm.		Verweigert das Futter und ist sehr matt. Starke Hyperleukocytose. Temp. 39,2° C.
5 „ Nm.		Temp. 40,5° C.
4. 11 „ Vm.		Kann nicht mehr aufstehen und antwortet nicht, wenn gerufen. Temp. 40,2° C.
5 „ Nm.		Temp. 40,8° C.
5. 5 „ Vm.		Stirbt.

Versuch 3.

Hund von 2 Jahren. Gewicht 4,5 kg.

Versuchstag	Injektion	Bemerkungen
1. 3 Uhr Nm. 3,30 Uhr Nm.	2,5 ccm Sublimat 1,5 ccm Rein- kultur von Milzbrand	
4 Uhr „	4 ccm Digitalin	Zeigt gar keine Störung.
2. 3 „ „	4 ccm Digitalin	Das Tier ist munter und frisst mit Lust. Bei der mikroskopischen Untersuchung wird deutliche Hyperleukocytose beobachtet.
3. 11 „ Vm.		Zeigt die ersten Symptome von Unwohlsein, keine Freßlust mehr und liegt in seinem Lager. Temp. 39,5° C.
5 „ Nm.		Temp. 39,7° C.
4. 11 „ Vm.		Verweigert das Futter und antwortet nicht, wenn gerufen. Temp. 39,2° C.
5 „ Nm.		Temp. 39,8° C.
5. 11 „ Vm.		Befindet sich unter denselben Bedingungen und zeigt häufige Schüttelfröste. Temp. 40° C.
5 „ Nm.		Temp. 40,2° C.
6. 11 „ Vm.		Die Mattigkeit setzt sich fort. Temp. 39,7° C.
5 „ Nm.		Temp. 39,5° C.
7. 11 „ Vm.		Beginnt zu antworten, wenn gerufen, und etwas Milch zu saufen. Verweigert das Fleisch. Temp. 39,4° C.
5 „ Nm.		Temp. 39,6° C.
8. 11 „ Vm.		Zeigt sich schon lustiger, antwortet, wenn gerufen, und frisst mit scheinbarem Appetit. Temp. 39,1° C.
5 „ Nm.		Temp. 38,8° C.

Bei der mikroskopischen und kulturellen Untersuchung des Blutes habe ich nie Mikroorganismen gefunden (s. Tabellen Versuche 5, 6 u. 7).

Versuch 4.
Hund von 3 Jahren. Gewicht 21,5 kg.

Versuchstag	Injektion	Bemerkungen
1. 3,20 Uhr Nm.	10 ccm Sublimat	Zeigt keine Reaktion auf die erlittenen Injektionen.
3,30 Uhr Nm.	3 ccm Rein-kulturMilzbr.	
4,20 Uhr Nm.	22 ccm Digitalin	
2. 4,20 Uhr Nm.	22 ccm Digitalin	Das Tier zeigt kein Symptom von Unwohlsein. Die Blutuntersuchung zeigt eine sehr starke Hyperleukocytose. Temp. 39,2° C.
3. 11UhrVm.	22 ccm Digitalin	Ist ziemlich munter. Frißt immer noch. Temp. 38,5° C.
4,20 Uhr Nm.		
4. 11UhrVm.		Verweigert das Futter, ist sehr matt und liegt immer, Temp. 40,7° C.
5. 3 „ Nm.		Immer sehr matt, antwortet nicht, wenn gerufen. Temp. 41° C.
7. 11 „ Vm.		Immer unter denselben Bedingungen. Temp. 41,2° C; dies ist das von dem Tiere erreichte Maximum der Temperatur, dann nahm das Fieber allmählich ab, der Hund begann Futter zu nehmen und nach wenigen Tagen war er wieder vollkommen gesund.

Versuch 5.
Hund von 2 Jahren. Gewicht 16,8 kg.

Versuchstag	Injektion	Bemerkungen
1. 9,30 Uhr Vm.	8 ccm Sublimat	Keine deutliche Reaktion seitens des Tieres.
10 Uhr „	3 ccm Rein-kulturMilzbr.	
10,30 „ „	17 ccm Digitalin	
2.		Zeigt kein Symptom von Unwohlsein. Bei der mikroskopischen Untersuchung wird eine erhebliche Hyperleukocytose beobachtet.
3. 11UhrVm.		Liegt in seinem Lager und will nicht fressen. Temp. 39,2° C.
5 „ Nm.		Deutliche Hyperleukocytose. Temp. 39,9° C.
4. 10 „ Vm.		Frißt nicht u. antwortet nicht, wenn gerufen. Temp. 40,2° C.
5 „ Nm.		Temp. 40,7° C.
5. 10 „ Vm.		Antwortet, wenn gerufen, aber liegt noch immer. Temp. 39,8° C.
5 „ Nm.		Frißt nicht. Temp. 39,8° C.
6. 10 „ Vm.		Das Tier beginnt Futter zu nehmen und zeigt sich frischer. Temp. 39,1° C.
5 „ Nm.		Temp. 39,2° C.
7. 10 „ Vm.		Scheint die Krise überwunden zu haben. Temp. 38,7° C.
5 „ Nm.		Temp. 38,9° C.
8. 10 „ Vm.		Ist vollkommen wieder hergestellt. Temp. 38,6° C.

Es sei bemerkt, daß in diesem Versuche die Digitalininjektion doppelt so stark gewesen ist, als die bei den anderen Versuchen verwendete.

Versuch 6.
Hund von 5 Jahren. Gewicht 21,4 kg.

Versuchstag	Injektion	Bemerkungen
1. 9 Uhr Vm.	11 ccm Subli- mat	Das Tier ist vollkommen gesund.
9,30 Uhr Vm.	4 ccm Rein- kulturMilzbr.	
10 Uhr „	22 ccm Digi- talin	
2. 10 „ „		Beginnt scheinbar etwas matt zu sein. Die mikroskopi- sche Blutuntersuchung zeigt eine starke Hyperleuko- cytose. Temp. 39,8° C.
3. 10 „ „		Liegt immer und verweigert das Futter. Temp. 39,9° C.
5 „ Nm.		Deutliche Hyperleukocytose. Temp. 40,3° C.
4. 10 „ Vm.		Beginnt Milch zu saufen und ist etwas munter. Temp. 39,7° C.
5 „ Nm.		Temp. 39,6° C.
5. 10 „ Vm.		Frißt und ist ziemlich lustig. Temp. 39,3° C.
5 „ Nm.		Temp. 39,4° C.
6. 10 „ Vm.		Das Tier ist vollkommen wieder hergestellt. Temp. 38,5° C.
5 „ Nm.		Temp. 38,8° C.

Versuch 7.
Hund von 9 Monaten. Gewicht 5 kg.

Versuchstag	Injektion	Bemerkungen
1. 3,30 Uhr Nm.	2 ccm Subli- mat	Das Tier bleibt vollkommen ruhig.
4 Uhr „	10 ccm Digi- talin	
4,30 Uhr Nm.	3 ccm Rein- kulturMilzbr.	
2.		Zeigt gar kein Zeichen von Unwohlsein. Bei der mikro- skopischen Untersuchung wird starke Hyperleukocytose beobachtet.
3. 10 Uhr Vm.		Zeigt sich etwas heruntergekommen. Deutliche Hyper- leukocytose. Temp. 39,5° C.
5 „ Nm.		Zittert fortwährend. Temp. 41,2° C.
4. 10 „ Vm.		Der Hund zeigt sich munter und frißt. Temp. 38,9° C.
5.		Ist vollkommen hergestellt.

Aus diesen Versuchen ergibt sich also, daß die Digitalininjektion nach jener von Milzbrand immer die Tiere vom Tode rettet, was nicht stattfindet, wenn die Digitalininjektion nach der von Sublimat und vor jener von Milzbrand vorgenommen wird. In der Tat wurden bei zwei solchen Fällen (siehe Versuch 2 und 7) entgegengesetzte Resultate erhalten, beim ersten der Tod, beim zweiten, wo die Digitalininjektion doppelt so stark war, überlebte das Tier die Milzbrandinjektion.

Untersuchungen, die ich in Bearbeitung habe und möglichst bald zu Ende zu bringen hoffe, werden vielleicht erklären, warum die Digitalininjektion nach der von Milzbrand nützlicher ist; vorläufig kann ich dafür keine sichere Erklärung geben.

Versuche an Hühnern.

Ich begann mit einfachen Sublimatinjektionen (1-promill.) zur Feststellung der nicht tödlichen Maximaldosis. Zu diesem Zwecke inoku-

lierte ich eine gewisse Anzahl von Hennen mit verschiedenen Dosen der üblichen Lösung. Die Injektion war immer endovenös.

Zunächst injizierte ich $\frac{1}{2}$, dann 1, 2, 3, $3\frac{1}{2}$ ccm. So fand ich, daß bei Injektion von 3 ccm einige Hennen widerstanden, andere nicht, und daß sie bei Zunahme der Dosis starben infolge von Quecksilbervergiftung, wie ich durch dazu angestellte Untersuchungen nachgewiesen habe, die ich hier wiederzugeben nicht für nötig halte.

Während ich diese Injektionen von einfachem Sublimat ausführte, injizierte ich auch in die Venen von anderen Hennen verschiedene Gaben von überaus virulenten Bouillonkulturen von Milzbrand. Nicht nur alle Hennen, denen allein Milzbrand auch in hohen Dosen injiziert wurde, sondern auch diejenigen, welchen vorher Sublimat injiziert wurde, zeigten niemals irgend ein Erkrankungssymptom.

Zum besseren Verständnisse möchte ich hier eine ausführliche Zusammenfassung der erhaltenen Ergebnisse anführen:

Huhn No. 1.

22. April 1903: 10,45 Uhr Vm. Injektion von 1 ccm Sublimat endovenös.
 23. " 1903: 11,15 " " " 1 " von virulenter Reinbouillonkultur von Milzbrand, 18 Std. alt, aus dem Blute eines infolge Versuches gestorbenen Hundes gewonnen.
 23. " 1903: Temp. $41,9^{\circ}$ C. Kein Symptom von Erkrankung. Fuhr fort zu fressen und Eier zu legen.

Huhn No. 2.

22. April 1903: 10,50 Uhr Vm. Injektion von 1 ccm Sublimat endovenös.
 22. " 1903: 11,20 " " " 1 " virulenter Reinkultur (von Milzbrand, wie oben.
 23. " 1903: Temp. 42° C. Kein Symptom von Erkrankung.

Huhn No. 3.

26. April 1903: 9,30 Uhr Vm. Injektion von 2 ccm Sublimat endovenös.
 26. " 1903: 10 " " " 2 " virulenter Reinkultur von Milzbrand, 24 Std. alt.
 27. " 1903: Temp. $41,7^{\circ}$ C. Kein Zeichen von Krankheit.

Huhn No. 4.

27. April 1903: 11 Uhr Vm. Injektion von 2 ccm Sublimat endovenös.
 27. " 1903: 11,15 " " " 3 " virulenter Reinbouillonkultur von Milzbrand, 24 Std. alt.
 28. " 1903: Temp. $41,9^{\circ}$ C. Kein Symptom von Erkrankung.

Huhn No. 5.

12. November 1903: 11 Uhr Vm. Injektion von 2 ccm Sublimat endovenös,
 12. " 1903: 11,30 " " " 2 " Reinbouillonkultur von Milzbrand, 5 Tage alt.
 12. " 1903: 4 Uhr Nm. Temp. $42,2^{\circ}$ C. Kein Zeichen von Unwohlsein.
 13. " 1903: 11 " Vm. " $42,1^{\circ}$ " " " " "
 14. " 1903: 10 " " " $42,1^{\circ}$ " " " " "
 16. " 1903: 11 " " " $42,3^{\circ}$ " " " " "

Huhn No. 6.

12. November 1903: 11,5 Uhr Vm. Injektion von 2 ccm Sublimat endovenös.
 12. " 1903: 11,35 " " " 2 " Reinbouillonkultur von Milzbrand, 5 Tage alt.
 12. " 1903: 4 " Nm. Temp. $42,7^{\circ}$ C. Kein Symptom von Erkrankung.
 13. " 1903: 11 " Vm. " $42,7^{\circ}$ " " " " "
 14. " 1903: 10 " " " $42,4^{\circ}$ " " " " "
 16. " 1903: 11 " " " $41,4^{\circ}$ " " " " "

Huhn No. 7.

12. November 1903: 11,10 Uhr Vm. Injektion von $2\frac{1}{2}$ ccm Sublimat endovenös.
 12. " 1903: 11,40 " " " 3 " Reinbouillonkultur v. Milzbrand, 5 Tage alt.

12. November	1903:	4	Uhr Nm.	Temp. 42,7° C.	Kein Symptom von Erkrankung.
13. "	1903:	11	" Vm.	41,8° "	" " " "
14. "	1903:	10	" "	42,3° "	" " " "
16. "	1903:	11	" "	42,0° "	" " " "

Huhn No. 8.

12. November	1903: 11,15	Uhr Vm.	Injektion von 2 ccm Sublimat endovenös.
12. "	1903: 11,45	" "	" 3 " virulenter Reinbouillonkultur von "Milzbrand, 5 Tage alt.
12. "	1903: 4	" Nm.	Temp. 42,8° C. Kein Erkrankungssymptom.
13. "	1903: 11	" Vm.	" 42,5° " " "
14. "	1903: 10	" "	" 41,2° " " "
16. "	1903: 11	" "	" 42,4° " " "

Aus den mitgeteilten Versuchen ziehen wir die folgenden

Schlüsse:

1) Die Injektion von Sublimat in nicht tödlicher Dosis, eine halbe Stunde vor jener von Milzbrand vorgenommen, ruft bei erwachsenen, sonst gegen den Milzbrandbacillus immunen Hunden den Tod infolge Milzbrandinfektion hervor.

2) Die gleiche Sublimatinjektion vermag nicht, die natürliche Widerstandsfähigkeit der Hühner gegen den Milzbrand zu beseitigen.

3) Das nach dem Milzbrand eingeführte Digitalin hebt die deletäre Wirkung des Sublimates auf, vielleicht infolge der starken, von demselben herbeigeführten Hyperleukocytose.

4) Wahrscheinlich hängt die vom Sublimat entfaltete schädliche Beeinflussung von einer besonderen Wirkung auf die weißen Blutkörperchen ab; die Erscheinung, daß die Hühner, ungeachtet der Sublimatinjektion, dem Milzbrand widerstehen, steht dann in Zusammenhang mit der Tatsache der größeren Widerstandsfähigkeit ihrer Leukocyten.

Literatur.

- 1) Cadéac, Journ. de phys. et pathol. 1902. p. 121.
- 2) Borini, A., Digitalisleukocytose bei den Lungenentzündungen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXII. p. 207.)

Nachdruck verboten.

Neue Entwicklungsformen des Choleraspirills und der Typhusbakterie.

Von Professor Ernst Almquist in Stockholm.

Da es in unserer Zeit gilt, ansteckende Krankheiten mit Erfolg zu bekämpfen, so benutzen wir die Methoden von Robert Koch. Dieser Forscher hat uns nicht nur die nötigen bakteriologischen Hilfsmittel, sondern den hauptsächlichsten Inhalt unseres Wissens und die neuen Ideen, die uns beim Kampfe leiten, beigebracht. Die Organisation gegen die Cholera lag 1894 fertig ausgearbeitet vor, und seitdem folgten Organisationen gegen andere Krankheiten. In Bezug auf Bekämpfung der Infektionen leben wir also im Zeitalter von Koch.

Welchen großen Fortschritt die moderne Seuchenbekämpfung im Vergleich mit der älteren ausmacht, braucht nicht hier beleuchtet zu werden. Der Schwerpunkt kann wohl so formuliert werden, daß durch

Koch endlich der Kranke und der Angesteckte als Quellen der Ansteckung völlig gewürdigt worden sind.

Es gibt wohl niemand, der behaupten will, daß durch die Arbeiten von Koch das letzte Wort in diesen Fragen gesprochen worden ist. Ich will nur eine Seite dieser Frage hervorheben. Hinter den modernen Organisationen gegen die Ansteckungen steht die Hypothese, daß die betreffenden Mikroorganismen keine wesentliche Entwicklung außerhalb dem kranken Menschen und eventuell dem kranken Tiere aufweisen. Diese Hypothese nannte ich auf dem ärztlichen Kongreß in Berlin 1890 die mechanische Hypothese und stellte für gewisse Seuchen dieser gegenüber eine biologische Hypothese auf, nach der eine Entwicklung gewisser pathogener Mikroorganismen anzunehmen wäre.

Meine biologische Hypothese litt natürlicherweise darunter, daß die angenommene biologische Entwicklung nicht erwiesen war. Aber von der anderen Seite konnte auch nicht bewiesen werden, daß sie nicht existiert. Die betreffende Grundlage der mechanischen Hypothese und der sogenannten Kontakttheorie liegt wohl in der gewissermaßen großen Erfahrung der Bakteriologen, beruht jedoch auf Untersuchungen mit negativen Resultaten. Dessen ungeachtet ist die Hypothese, so viel ich weiß, von allen Bakteriologen als richtig anerkannt worden.

Daß ich gegen den Strom zu gehen wagte und eine umfassende Arbeit aufnahm, die von den meisten als aussichtslos betrachtet wurde, geschah, weil ich persönliche Erfahrung von Epidemien erworben hatte, die mit der herrschenden Auffassung nicht gut in Einklang zu bringen war. Dieses betraf in erster Hand Darmtyphus, Cholera und Dysenterie. Ich finde es nicht passend, die Stützen meiner schon im Jahre 1884 veröffentlichten Hypothese hier zu wiederholen, sondern verweise auf meine früheren Abhandlungen, z. B. in Zeitschrift für Hygiene. Bd. V. p. 64; Bd. X. p. 163.

1) Der Choleraspirill.

Da ich im Dezember vorigen Jahres verunreinigte Erde, mit etwas Bouillon gemischt, als Nährboden im Reagenzglas benutzte, so entwickelte sich bei Zimmertemperatur innerhalb 2 Wochen eine Unmasse von Kügelchen, die teils in Haufen zusammenlagen, teils frei waren. Einige zeigten deutliche Eigenbewegung. Diameter etwa 1–1,5 μ . Choleraspirillen waren auch vorhanden, zum Teil als ziemlich lange Fäden.

Der überraschende Befund gab mir Veranlassung, neue Proben zu machen und es stellte sich bald heraus, daß gewisse Sorten von gedüngter Erde besonders geeignet waren, auch ohne Bouillon das Phänomen zu entwickeln. Mit einer Sorte konnte ich sogar im hängenden Tropfen der Entwicklung folgen. Nach etwa einer Woche sah ich einige Spirillen in lange, feine Fäden umgewandelt, die einen dickeren Teil aufwiesen. Dieser dickere Teil konnte auch spiralförmig gewunden sein und mit einem langen, feinen Faden zusammenhängen. Von der Seite der Fäden sprossen die Kügelchen hervor.

Die betreffende Erde, die von einem Kuhstall stammt, ist sehr reich an Salz. Dieses, zusammen mit gewissen Beobachtungen über stellenweises Zusammenballen der Spirillen, führte mich zu dem Gedanken, daß der Salzgehalt einen Einfluß auf die Choleraspirillen ausübt. Dieser Gedanke hat sich bestätigt.

In einer Nährbouillon mit 2 Proz. Kochsalz entwickelt sich der Choleraspirill gut. Nach wenigen Tagen findet man außer den Spirillen

auch zahlreiche große Kugeln. Durch diese Beobachtung wurde ich von der beschwerlichen Arbeit mit Erdekulturen zum Teil befreit. Wenn ich von genannter Bouillonkultur den Bodensatz auf gewöhnlichen Schrägagar überimpfte, so entwickelte sich innerhalb etwa 4 Stunden bei Brutwärme eine eigentümliche Kultur. Später wird die Oberfläche mit Spirillen überwuchert.

Die genannte eigentümliche Kultur zeigt Stäbchen verschiedener Breite, die manchmal gleich den Typhusbacillen aussehen. Sie sind beweglich und oft spiralig gewunden. Gleichzeitig kann man auch keimende Kugeln in großer Zahl treffen. Im hängenden Tropfen entwickeln sich die genannten Stäbchen auch bei Zimmertemperatur schnell weiter. Man sieht, wie von der Seite des Stäbchens die großen Kugeln hervorsproießen. Gewöhnlich geschieht dieses etwa an der Mitte des Stäbchens, manchmal auch an der Spitze. Nicht selten war es möglich, einen kurzen, ganz dünnen Stiel zwischen Stäbchen und Kugel sicher zu beobachten. So viel ich verstehen kann, haben wir hier eine Art Konidien vor uns.

Den nächsten Tag sieht man in gelungenen Präparaten fast nur große Kugeln. Die meisten Stäbchen haben Konidien hervorgebracht. Solche Präparate habe ich mehrmals mit gewöhnlicher Bouillon herstellen können; sie blieben später sichtbar unverändert.

Die Keimung der Konidien geschieht, wie gesagt, auf dem Schrägagar und kann auch im hängenden Tropfen beobachtet werden. Sie ist recht verschieden. Von einigen Konidien sieht man ein oder zwei kurze, schmale Stäbchen oder Spirillen auskeimen. Nicht selten gehen diese von demselben Punkt der Kugel aus. Aber die Kugel kann auch neue Kugeln direkt oder indirekt hervorbringen. Die Botaniker sprechen von Hefekonidien, da eine Konidie, so wie es der Sproßpilz tut, direkt neue Konidien bildet. Es scheint mir höchst wahrscheinlich, daß die Cholerakonidie Bildungen dieser Art entwickelt.

Daß die Cholerakonidie zu Stäbchen keimt, halte ich für sicher. Ob sie auch gewöhnliche Choleraspirillen hervorbringt, kann ich nicht beweisen, manchmal sieht es aber so aus. Die Stäbchen besitzen nachweislich eine gewisse Konstanz und gehen wenigstens nicht immer so leicht in Spirillen über.

Die von mir beobachteten Konidien des Choleraspirills sind keine Ruhesporen. Sie färben sich leicht, ungefähr ebenso leicht wie der Spirill. Sie sind scharf konturiert. Die Bildungen sind nicht mit A. Fischers Plasmoptysekugeln zu verwechseln. Die letztgenannten sind mehr diffus, vermissen den Stiel und kommen plötzlich zu stande.

Ich habe mit Cholerakulturen gearbeitet, die Professor Dunbar in Hamburg die Freundlichkeit hatte mir zu schicken. Alle untersuchten Proben bilden ähnliche Konidien, jedoch sind die Stämme nicht ganz gleich. Da in einem gewissen Medium eine Rasse häufige Konidien entwickelt hat, so findet man hingegen dieselben bei einer anderen Rasse erst mehrere Tage später.

Unter gewissen Umständen findet man in den Cholerakulturen sehr feine, kaum sichtbare Bildungen sowohl von ganz kurzen Spirillen, wie von sehr kleinen und größeren, aber sichtbar leeren Kügelchen. Ich nehme an, daß es sich dabei um eine Degeneration in einem unvorteilhaften Medium handelt. Diese Bildungen sind in der Literatur nicht unbekannt. Die genannten Kügelchen trennen sich von den oben beschriebenen dadurch, daß sie schwerlich sich weiter entwickeln lassen.

2) Der Typhusbacillus.

Dieser ist bedeutend schwieriger zu studieren als der Choleraspirill. Ich habe sehr viel Zeit angewandt, um in verunreinigter Erde neue Entwicklungsformen zu entdecken. Vor 10 Jahren veröffentlichte ich eine Mitteilung, nach der ich in verunreinigter Erde, mit Wasser oder Bouillon benetzt, den Typhusbacillus zu feinen Stäbchen umgewandelt sah, die sich teils länger, teils ganz kurz zeigten. Die kurzen feinen Nadeln, die 1 μ kaum überschritten, nannte ich „sporenähnliche Bildungen“. Weiter fand ich, daß die schmälere Formen eine gewisse Konstanz besitzen, und daß der Typhusbacillus nicht nur durch Längenwachstum, sondern auch mittels seitlicher Auswüchse sich vermehrt¹⁾.

Die Fortsetzung dieser in der Literatur kaum beachteten Beobachtungen bot sehr große Schwierigkeiten. Lange Zeit mußte ich ohne Erfolg arbeiten. Allmählich kam ich jedoch dahinter, daß in gewissen Erdproben die Typhusstäbchen sich zusammenballten, worauf sie winzig kleine Bildungen hervorzubringen schienen. Ich dachte dann an eine mögliche Einwirkung eines höheren Salzgehaltes. Zuerst versuchte ich halbtrockene Erde, seit einigen Wochen mit Typhusstäbchen gemischt, auf der ziemlich trockenen Oberfläche des Schrägagars auszubreiten. Gleich fand ich neue Bildungen, und zwar Konidien, die den Cholera-konidien recht ähnlich waren.

Die Typhuskonidien entwickeln sich öfters an der Spitze des Stäbchens und sind mit diesem durch einen sehr dünnen, kurzen Stiel verbunden. Manchmal sprießt jedoch die Kugel von der Seite des Stäbchens hervor. Bald werden sie frei und behalten dann oft den Stiel festsitzend. Die Kugel mißt 1 μ oder bis zu 2 μ , läßt sich leicht färben, hat aber ganz scharfe Konture. Dauersporen sind diese Bildungen nicht.

Die weitere Entwicklung der Typhuskonidien läßt sich im hängenden Tropfen beobachten. Bei Brutwärme sieht man nach einigen Stunden, daß von dem Stiel der frei liegenden Konidie ein feiner Faden auswächst, der recht lang werden kann. Manchmal sieht man auch von der Spitze des Stieles zwei kurze, dickere Ausläufer stark divergierend ausgehen. Vielleicht bilden sich an diesen Ausläufern neue Kugeln oder die „sporenähnlichen Bildungen“. Es scheint mir, daß einige Bilder auch so gedeutet werden müssen, daß die „sporenähnlichen Bildungen“ sowie neue Kugeln direkt von der Seite der Konidie ausgehen können. Es ist also auch in Bezug der Typhuskonidie möglich, daß eine Hefensprossung stattfindet.

Den nächsten Tag können die Konidien im hängenden Tropfen verschwunden sein. Man sieht vielleicht hauptsächlich feinste Fäden und die obengenannten „sporenähnlichen Bildungen“. Manchmal sind die genannten feinsten Fäden so vorherrschend, daß das Präparat wie ein feines, fast unsichtbares Netzwerk aussieht. Ich bin deshalb versucht, diese Fäden, bei denen nie Verzweigungen beobachtet worden sind, „Myceloid“ zu nennen. Die längeren Cholerafäden, die selten Andeutung von Verzweigungen aufweisen, können passend denselben Namen tragen.

Konidien habe ich nachher in mit Typhus geimpfter Bouillon getroffen, da diese mit 2—3 Proz. Kochsalz versetzt war. Der Typhusbacillus wächst in solcher Nahrung und bildet allmählich Konidien, aber in sehr wechselnder Menge. Zuletzt findet man in diesen Kulturen dicke, lange Fäden und feine „sporenähnliche Bildungen“.

1) Zeitschrift für Hygiene etc. Bd. XV. p. 286.

Auch auf einer Agarfläche, deren Agar mit 3 Proz. Kochsalz versetzt ist, wächst der Typhusbacillus recht gut. Hier habe ich nach einiger Zeit recht viele Konidien treffen können.

In gedüngter Erde, mit Bouillon benetzt, habe ich öfters die kleinen „sporenähnlichen Bildungen“ und feine Fäden getroffen, wie ich schon vor 10 Jahren mitteilte. Dieselben feinen Formen des Typhusbacillus entwickeln sich oft, da der Nährboden salzhaltiger ist, oder da die Konidien gekeimt haben. Auf Agar mit 2—3 Proz. Kochsalz sah ich öfters Bildungen, als ob die feinen, „sporenähnlichen“ Nadeln von der Oberfläche des Typhusstäbchens auswachsen sollten. Mehrmals sah ich dieses von dem Ende oder den Seiten des Stäbchens geschehen. Ich nehme deshalb an, daß die feineren Typhusformen sowohl direkt von den gewöhnlichen Stäbchen, wie auch von den schmalen Typhusfäden und von der Konidie ausgehen können. Die „sporenähnlichen Bildungen“ können mit Wahrscheinlichkeit sich auch als solche fortpflanzen. Ob dieses durch Teilung oder durch seitliche Auswüchse geschieht, habe ich nicht feststellen können.

Wie diese „sporenähnlichen Bildungen“ botanisch aufzufassen wären, weiß ich nicht zu sagen. Manchmal schien es als ob feinste Körnchen an der Oberfläche eines Stäbchens oder Fadens aussprossen sollten, die vielleicht eine Art von Konidien ausmachen. Sicher ist, daß die schmalen „sporenähnlichen Bildungen“, die nur etwa $1\ \mu$ oder $1,5\ \mu$ lang sind, sehr häufig vorkommen und lebhaft beweglich sein können.

Daß der gewöhnliche grobe Typhusbacillus die feinen Formen hervorbringt, ist sichergestellt. Ob die letztgenannten wieder die größeren entwickeln können, kann ich nicht endgültig beantworten. Jedoch ist es wahrscheinlich der Fall. Ich habe Bouillonkulturen von den feineren Formen gemacht, in denen ein feiner Faden eine winkelrecht ausgehende gröbere Fortsetzung erweisen konnte. Ich habe die „sporenähnlichen Bildungen“ auf Schrägagar kultiviert und dabei in einigen Stunden eine Kultur von groben Stäbchen ausgehen sehen. Da jedoch das Vorkommen grober Stäbchen in der Saat nicht ausgeschlossen sein konnte, so ist der Versuch nicht ganz beweiskräftig.

Die „sporenähnlichen Bildungen“ entwickeln sich nicht nur, wo Pepton oder Bouillon anwesend ist. Ich habe dieselben in reichlicher Menge sich bilden sehen, da Typhusbacillen in der Auslauge gewisser gedüngter Erde emulgiert worden sind.

In der Erde kann der Typhusbacillus also einer Umwandlung in die feineren Formen unterliegen. Es scheint auch möglich zu sein, daß der Bacillus ohne deutlich morphologische Umgestaltung dort die Fähigkeit bekommt, später die neuen Formen zu entwickeln.

Gewissermaßen bilden unter gewissen Verhältnissen die feinen Formen den Abschluß der Entwicklung des Typhusbacillus; bei dem Choleraspirill entsprechen sie in dieser Hinsicht den Konidien.

Ich habe nicht sicher konstatieren können, ob die breiten Choleraformen neue Spirillen hervorbringen und die beschriebenen schmalen Typhusformen neue Typhusstäbchen. Eine gewisse Konstanz haben die beiden genannten neuen Bildungen jedenfalls. Da eine Kultur die Fähigkeit bekommen hat, die neuen Formen hervorzubringen, so wachsen diese auch in gewöhnlichen Nährmedien mit physiologischem Kochsalzgehalt weiter.

Der Entwicklungszyklus der beiden verhandelten, pathogenen Mikroorganismen bietet viel übereinstimmendes. Beide Arten haben breitere

und schmalere Formen und bringen ähnliche Konidien hervor. Bei dem Typhus ist die breitere Form bis jetzt allein kultiviert worden, bei der Cholera der schmale Spirill.

Aus meinen Untersuchungen geht hervor, daß sowohl der Cholera-spirill wie der Typhusbacillus bisher unbeachtete Formen entwickeln. Es ist nicht möglich a priori zu verneinen, daß diese Formen für die betreffenden Arten wirkliche Bedeutung besitzen. Also läßt sich für die betreffenden Krankheiten die biologische Theorie nicht länger zur Seite schieben.

Bei Untersuchung über Verlauf von Epidemien und Entstehung von Fällen darf man nicht schablonenartig ausschließlich nach der mechanischen oder der Kontakttheorie vorgehen. Es ist sehr leicht möglich, daß die gedüngte Erde, die so häufig in der Umgebung der Menschen entsteht, eine große Rolle für die genannten Epidemien spielt. Das ist das erste, was für die Epidemien jetzt studiert werden muß.

Die entdeckten neuen Formen können auch auf andere Art auf die Forschung einwirken. Es wird nötig sein zu untersuchen, wie sich in genannter Hinsicht andere pathogenen Mikroorganismen verhalten.

Für die Bakteriologie im allgemeinen muß die Entdeckung der Konidien und des vollen Entwicklungszyklus zweier Arten von wirklichem Werte sein. Studien in derselben Richtung werden ohne Zweifel auf die Darstellung der Morphologie und Systematik der Bakterien einen sehr heilsamen Einfluß ausüben.

Nachdruck verboten.

Note on a method of maintaining the virulence of a pathogenic micro-organism.

By Wm. St. C. Symmers, M. B. Aberd.,
Professor of Pathology, Medical School, Cairo.

It is a well known fact that the virulence of certain bacteria may be increased by successive passages through the bodies of suitable animals, and, in the second place, that successive cultivations on artificial media are attended by a progressive decrease of virulency.

In order to maintain the virulency of a given bacteria e. g. the *Bac. cholerae asiaticae* it has, hitherto, been necessary to pass the vibrio from time to time through the bodies of guinea-pigs or other suitable animals.

The following experiments will show that it is possible to maintain the virulence of the Komma bacillus without sacrificing a series of animals.

The organism employed was the Bacillus of cholera. It was sent to the writer by Dr. Armand Ruffer who had isolated it from the dejecta of cholera patients that died of the disease during the epidemic in Cairo 1896. This bacillus when first inoculated intraperitoneally in guinea-pigs, i. e. three weeks after its isolation from cholera dejecta had lost much of its pathogenic power, — the whole of a twenty-four hours' growth on agar was required to kill a 300 g guinea-pig in 48 hours.

By passing it through a series of guinea-pigs a growth was obtained of such strength that the 40th part of a twenty-four hours' growth on agar-agar sufficed to kill a guinea-pig (320 g) in twenty hours. A hundredth part of the same growth did not kill a 380 g guinea-pig.

Having arrived at this strength, the following experiments were made.

A. Agar cultures were made and placed in the incubator at 37° C for one month. At the end of this time the cultures were found to have lost their virulence, the whole of such a culture did not suffice to kill the animals.

B. Agar cultures were incubated at 37° C and fresh sub-cultures of these were made every two days. At the end of a month the last made sub-cultures were harmless.

C. A series of cultures of the virulent bacille was made in the following manner. The whole of the agar culture was made into an emulsion with 10 ccm of sterile distilled water: pointed glass tubes closed at the pointed end were partly filled with 4 ccm of this emulsion and to each tube there were added from 1 to 10 drops of the serum of a horse immunised against the cholera bacillus. These tubes were incubated at 37° C for twenty-four hours, then agar cultures were made, and these latter after twenty-four hours in the incubator (37° C) were emulsionised in the same manner as above stated, and in their turn grown in distilled water to which the serum of immune horses was added.

Thus there was an alternating cultivation on agar-agar and in diluted serum, this alteration being kept up for a month. At the end of the month an agar culture was inoculated in varying quantities into guinea-pigs and it was found that the minimal fatal dose for these animals was $\frac{1}{50}$ th of the agar culture. Indeed, one of the animals died in twenty-two hours after the intraperitoneal inoculation of $\frac{1}{100}$ th of the growth, however, other animals survived this quantity, whereas $\frac{1}{50}$ th was fatal to all the guinea-pigs inoculated (three).

The inoculations were all made into the peritoneal cavity.

The animals weighed from 320 to 380 g. In all the fatal cases, the bacillus was recovered in pure cultures from the peritoneal cavity and the animals died with the typical appearances.

The serum used was from a horse immunised by the writer at the experimental farm (Sudbury) of the British Institute of Preventive medicine. The strength of this serum was moderate, it required $\frac{1}{10}$ ccm to protect a guinea-pig against the minimal fatal dose of the above mentioned virulent bacillus. The introduction of the serum into the tubes containing the emulsion of the bacillus was followed by a copious precipitate of bacilli in two hours time, the agglomeration commencing in ten minutes time. After a night in the incubator the tubes showed a heavy precipitate at the bottom, and a distinct, though delicate, surface membrane. The inoculations from the tubes to agar were usually taken from the surface growth. By carefully snipping off the pointed extremities of the tubes it was possible to obtain some of the precipitated bacilli, and from these an extremely abundant growth of virulent bacilli was obtainable on agar-agar. It is thus evident that the precipitated bacilli were not destroyed by the serum, neither was their virulency in the slightest degree diminished.

Nachdruck verboten.

Puerperalerkrankung bei Meerschweinchen¹⁾.

[Aus der Prosektur der k. k. Krankenanstalt Rudolfstiftung in Wien
Vorstand: Prof. R. Paltauf.]

Von Dr. G. A. Wagner,

gew. Assistent an der I. chirurgischen Klinik in Wien.

Im Laufe der letzten Jahre gingen in unserem Institute von den zur Zucht bestimmten Meerschweinchen wiederholt Muttertiere, die bisher augenscheinlich durchaus gesund gewesen waren, kurze Zeit nach dem Wurf oder seltener knapp vor demselben ein, ohne daß eine bestimmte Veranlassung durch äußere Momente dafür zu finden gewesen wäre. Es fiel auf, daß die mit diesen in gemeinsamen Ställen gehaltenen männlichen und ebenso die nicht trächtigen oder nicht puerperalen weiblichen Tiere niemals von einer ähnlichen, rasch zum Tode führenden Erkrankung betroffen wurden; dabei sei bemerkt, daß in unserem Institute die Ställe der zur Zucht bestimmten Tiere von den Ställen der in Versuch stehenden Tiere räumlich weit entfernt sind.

Um die Ursachen dieser häufigen Todesfälle aufzudecken, übernahm ich im Frühjahr 1902 die Aufgabe, die vorkommenden Fälle zu untersuchen, und gebe im folgenden die gefundenen Resultate wieder.

Es sei zunächst hervorgehoben, daß die oben erwähnten Erkrankungen von hochträchtigen und puerperalen Meerschweinchen, die stets mit dem Tode derselben endeten, nicht gleichmäßig über das ganze Jahr verteilt waren, sondern besonders im Frühjahr und Herbst in Form kürzer oder länger dauernder Epizootieen auftraten. Die erste der von mir untersuchten Epizootieen begann am 6. März 1902. Nachdem bis dahin lange Zeit keines der Zuchttiere eingegangen war, verendete an diesem Tage ein großes, kräftiges Muttertier kurze Zeit nach dem Wurf. Am 8. März gingen 2 Meerschweinchen knapp nach dem Wurf, am 17. März 3 solche ein. Damit war diese Epizootie ziemlich abgeschlossen, ohne daß irgendwelche größere Aenderungen in der Stallung (Desinfektion etc.) vorgenommen worden wären. Im April und Mai kam dann noch je 1 Fall zur Beobachtung. Die zweite Massenerkrankung stellte sich im Oktober ein und zog sich mit vereinzelt Fällen bis Anfang Dezember hin. Dann trat wieder eine längere Pause ein, bis im März und April 1903 wieder mehrere Muttertiere der neuerlich ausgebrochenen Epizootie zum Opfer fielen.

Die gefallenen Tiere wurden möglichst bald nach dem Exitus sezziert. Im folgenden seien die Sektionsprotokolle auszugsweise mitgeteilt. Die Untersuchungen erstreckten sich auf 21 Fälle. In allen Fällen handelte es sich um Tiere, die kürzere oder längere Zeit vorher geworfen hatten oder knapp vor dem Wurf eingegangen waren. Die Jungen der ersteren waren teils totgeboren worden oder nach dem Partus eingegangen, teils kamen sie auf. Die Föten der hochträchtig verendeten Tiere waren stets tot. Einige von diesen wurden in jedem Falle ebenso wie die Muttertiere untersucht. Die Befunde sind im wesentlichen aus der beigefügten Tabelle ersichtlich. Da bei einer An-

1) Auszugsweise vorgetragen auf der Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte 1903 in Cassel. Abteilung für Geburtshilfe und Gynäkologie.

zahl von Tieren die Befunde identisch waren, sollen sie im folgenden gemeinsam besprochen werden. Die zur Sektion gelangten Meerschweinchen waren meist abgemagert; einzelne von ihnen waren besonders starke Zuchttiere gewesen.

I. In einer Gruppe von Fällen (Fall 2, 3, 5, 6, 14, 17) zeigten sich die Pleuren und Lungen frei von pathologischen Veränderungen, ebenso das Perikard. Das Herzfleisch war meist etwas fettig degeneriert. Das Peritoneum war frei von irgend welchen Veränderungen. Regelmäßig war die Leber stark vergrößert, gelb bis graugelb gefärbt, lehmfarben. Die Milz war stets vergrößert, in einigen Fällen in ganz besonders hohem Grade. Die Nieren erschienen etwas gequollen, leicht gelblich-braun gefärbt. Der Fruchtsack war bei den Tieren, die kurze Zeit nach dem Wurf eingegangen waren, groß, bläulichrot gefärbt, die Schleimhaut geschwellt, manchmal mit eiterigen Belägen bedeckt; bei jenen Tieren, bei denen zwischen dem Wurf und dem Exitus längere Zeit verstrichen war, zeigte der Fruchtsack makroskopisch keine Veränderungen. Bei einem hochträchtig verendeten Tiere fand sich der Fruchtsack dunkelblaurot, die Innenseite eiterig belegt.

II. In einer Reihe von Fällen (9, 10, 12, 15, 16, 18, 19, 20, 21) ergab sich an den inneren Organen der gleiche Befund, nur war in dieser Gruppe eine Affektion des Peritoneums, manchmal auch der anderen serösen Häute (Pleura, Perikard) vorhanden. In der Bauchhöhle dieser Tiere fand sich eine Menge trüber oder hämorrhagisch gefärbter Flüssigkeit. Die Serosa des Darmes und der übrigen Bauchorgane war matt, manchmal mit zarteren oder derberen Auflagerungen belegt. Das pleuritische und perikardiale Exsudat war meist trüb, serös, in einem Falle eiterig.

III. Eine dritte Gruppe von Fällen (1, 7, 8, 9) bildeten diejenigen Tiere, die schwere Erkrankungen anderer Organe, meist der Lungen, darboten. In den letzteren Fällen waren die Lungen mit der Brustwand verklebt, auf dem Durchschnitt waren dieselben in größeren oder kleineren Herden luftleer, infiltriert. In einem Falle (1) ergab sich folgender Befund: Bei Eröffnung der Bauchhöhle wird entsprechend der vorderen Fläche der Leber ein Absceß eröffnet, welcher zwischen Bauchwand und dem medialen Anteile des rechten Leberlappens gelegen war; aus demselben entleerte sich Eiter. Bei der genaueren Präparation zeigte sich, daß derselbe von der Leberoberfläche ausging, an welcher sich ein etwa bohnen großer, mit Eiter gefüllter Hohlraum befand, an dessen oberer Umrandung das Zwerchfell adhärent war. Auf dem Durchschnitte hatte der Herd eine annähernd dreieckige Gestalt, die Spitze des Dreiecks gegen das Innere der Leber gerichtet.

Im übrigen war der Sektionsbefund bei den Tieren dieser Gruppe analog dem der ersten beiden.

Zwei der am Ende der Gravidität gefallenen Tiere (11, 13) boten bei der Sektion wie auch bei der weiteren Untersuchung einen völlig negativen Befund dar. Diese beiden können aus dem Bereiche unserer weiteren Untersuchungen eliminiert werden.

Mit Ausnahme dieser zwei Fälle war also in allen von uns untersuchten Fällen der pathologisch-anatomische Befund im wesentlichen folgender: Der Fruchtsack zeigte meist, so namentlich in den frischeren Fällen, die Zeichen einer mehr oder minder starken Entzündung; die fettige Degeneration des Herzmuskels, der Leber und der Nieren, der große Milztumor waren in allen Fällen vorhanden. Dazu kamen in

einigen Fällen Entzündungen des Peritoneums, manchmal auch der Pleura und des Perikards. In einer anderen Gruppe endlich fanden sich pyämische Metastasen in den Lungen oder der Leber. Es lag somit in den erwähnten Fällen der Befund teils eines septikämischen, teils eines pyämischen Krankheitsprozesses vor.

In Deckglaspräparaten, die bei den einzelnen Sektionen (aus dem Pleura- bzw. Peritonealexudat oder den Abscessen in den verschiedenen Organen) angefertigt wurden, fanden sich zwischen den Eiterzellen reichlich kürzere oder längere Ketten kleiner, runder Kokken, die extracellulär lagen, sich mit den gebräuchlichen Anilinfarben gut färbten und Gram-positiv waren.

Die bakteriologische Untersuchung ergab in fast sämtlichen Fällen in den untersuchten Organen zum Teil ausschließlich, zum Teil vorwiegend kleine, zarte, grauweiße, unscharf begrenzte, bei schwacher Vergrößerung wie zerfranst aussehende Kolonien, die sich bei weiterer Untersuchung als Streptokokkenkolonien erwiesen.

Es bestand somit, ebenso wie die meisten untersuchten Fälle bezüglich des anatomischen Befundes übereinstimmten, diese Übereinstimmung auch, was die bakteriologische Untersuchung derselben anbelangt. In den meisten Fällen (2, 3, 7, 10, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 21) fanden sich die Streptokokken in Reinkultur. Im Falle 1 zeigte die mit dem Eiter vom Leberabsceß beschickte Platte außer zahlreichen Streptokokkenkolonien einzelne größere ineinanderfließende Kolonien von Stäbchen, die sich als eine Proteusart erwiesen. Die Platte vom Cavum uteri zeigte eine größere, aus mehreren solchen Kolonien konfluerte Insel und in ihrer Umgebung sehr zahlreich die zarten Streptokokkenkolonien. Auch die mit dem Milzsaft beschickte Agarplatte zeigte neben zahlreichen Streptokokkenkolonien vereinzelte größere Kolonien, die aus Kurzstäbchen der Proteusgruppe gebildet waren. In Fall 5 fanden sich neben massenhaften Streptokokken vereinzelte Kolonien von *Staphylococcus pyogenes albus*. Die Platten von Fall 8 zeigten bei Beschickung mit dem Herzblut proteusähnliche Kolonien, die die ganze Platte überwucherten, die Platten von der Milz neben solchen Kolonien einzelne Streptokokkenkolonien, die Platten vom Fruchtsackinneren endlich fast durchwegs die zarten Streptokokkenkolonien, daneben vereinzelte proteusartige Kolonien. In Fall 9, der erst längere Zeit nach dem Wurf einging, ergab die bakteriologische Untersuchung des Herzblutes eine Reinkultur von Streptokokken; aus dem Milzsaft gingen neben diesen 3 größere, weiße Kolonien auf, die nicht weiter verfolgt wurden. Die Platte, die mit Fruchtsackinhalt beschickt worden war, blieb steril. In Fall 19 endlich waren aus dem Herzblut Streptokokken in Reinkultur, aus der Milz und dem Fruchtsack neben zahlreichen Streptokokkenkeimen vereinzelte Keime von *Staphylococcus pyogenes albus* aufgegangen.

Nur in 3 Fällen¹⁾ wurden keine Streptokokken gefunden.

Bei Fall 4 und 6 waren die Platten ganz von einem proteusähnlichen Bakterium überwuchert. Diese beiden Tiere wurden ebenso wie Fall 8 erst längere Zeit nach dem Exitus sezirt. In Fall 20 endlich, der anatomisch mit den Fällen der ersten Gruppe übereinstimmte,

1) Die beiden Fälle 11 und 13, deren Sektionsbefund ein völlig negativer gewesen war (siehe oben), ergaben auch in bakteriologischer Beziehung ein negatives Resultat und kommen hier nicht weiter in Betracht.

blieben sämtliche Platten vom Herzblut, perikardialen Exsudat, der Milz und dem Fruchtsack steril.

Fassen wir die gefundenen bakteriologischen Befunde zusammen, so sehen wir, daß wir in fast allen Fällen aus den Organen der gefallenen Tiere Streptokokken, und zwar zumeist in Reinkultur, züchten konnten. Die in einzelnen Fällen gleichzeitig aufgegangenen vereinzelt Kolonien können wir wohl als zufällige Verunreinigungen auffassen.

Negativ in Bezug auf den Befund von Streptokokken waren nur die beiden Fälle, die schon durch den abweichenden Sektionsbefund als nicht zu der in Frage stehenden Erkrankung gehörig aus dem Bereich unserer diesbezüglichen Untersuchungen ausscheiden konnten, ferner 2 Fälle, in denen die Sektion erst längere Zeit nach dem Tode der Tiere vorgenommen worden war, in denen ein proteusähnlicher Stamm die Platten so üppig überwuchert hatte, daß eventuell darunter befindliche andere Kolonien leicht verdeckt worden sein konnten, und endlich der Fall 20, der bezüglich des pathologisch-anatomischen Befundes mit den anderen Fällen übereinstimmte, bei der bakteriologischen Untersuchung aber ein vollkommen negatives Resultat ergab.

Die gefundenen Streptokokken ¹⁾ zeigten im allgemeinen folgendes Verhalten:

Auf Agaragar bildeten sie feine, blasse, unscharf begrenzte, im durchfallenden Lichte leicht bläulich erscheinende Kolonien, die bei schwacher Vergrößerung eine feine Körnung und einen wie zerfranst aussehenden Rand zeigten.

Etwas größere Kolonien bildeten sie auf Serumagar, Voges-Agar, Löffler-Serum und Zuckeragar.

Agarstrich: feiner, durchscheinender, fast farbloser, tautropfenähnlicher Belag.

Agarstich: zartes Wachstum längs des ganzen Stichkanals.

Auf Gelatineplatten und in Gelatinestich bei Zimmertemperatur kein Wachstum. Auf Kartoffel wuchsen sie nicht.

In der Bouillon bildeten sie meist einen feinen, schüppchenförmigen Bodensatz, der sich an einer Seite der Epruvette emporzog, während im übrigen die Bouillon klar blieb. Reichlicher als in Bouillon gediehen sie in Zuckerbouillon, ziemlich üppig in Bouillon mit Zusatz von Hydrocelenflüssigkeit.

Sie wuchsen aerob wie anaerob. Gasbildung konnte nicht beobachtet werden.

Um die hämolytische Fähigkeit der Streptokokken zu erproben, wurden fallende Mengen 1—4-tägiger Bouillonkulturen (Bouillon mit Hydrocelenflüssigkeit) zu 5-proz. Kaninchenblutauflösung zugesetzt; die Versuche fielen bei zwei untersuchten Stämmen negativ aus.

Die Streptokokken zeigten sich beim Kaninchen bei subkutaner Injektion als nicht pathogen, während sie Mäusen gegenüber pathogen waren. Sie töteten dieselben nach subkutaner Injektion nach 48 Stunden oder länger.

Einem gesunden männlichen Meerschweinchen subkutan injiziert, erzeugten sie ein geringes Infiltrat an der Impfstelle. Sonst waren sie diesem gegenüber nicht pathogen.

Bei einzelnen Stämmen der aus den untersuchten Fällen gezüchteten Streptokokken kamen Abweichungen von dem oben beschriebenen Typus vor. So schwankte die Länge der Ketten in erheblichem Ausmaße. Während in einzelnen Fällen die Ketten oft nur aus 2—3 Gliedern bestanden, waren sie in anderen Fällen von ganz enormer Länge.

Auch die Kulturen auf den gewöhnlichen Nährböden zeigten geringe Abweichungen. Während einzelne Stämme auf Agarplatten nur spärlich aufgingen oder in Bouillon einen kaum wahrnehmbaren, staubförmigen, spärlichen Bodensatz bildeten, gingen andere auf den Agarplatten reichlich auf und bildeten im Bouillonröhrchen einen dichten, weißen, flockigen, reichlichen Bodensatz. Wie in der Ueppigkeit des Wachstums zeigten sich auch in der Größe der Kolonien, speziell auf Agar, Unterschiede. Während die meisten Stämme äußerst zarte, kleine Kolonien bildeten, erreichten in einzelnen Fällen die Kolonien eine für Streptokokken ganz ungewöhnliche Größe.

Zwischen den hier angedeuteten Formen gab es allerhand Uebergänge, so daß eine scharfe Abtrennung der einzelnen Stämme von einander auf Grund des morpho-

1) Die Kulturen (2 Stämme) wurden dem Králschen Laboratorium in Prag übersendet und sind daselbst erhältlich.

logischen und kulturellen Verhaltens nicht möglich war. Bei diesen geringen Abweichungen sind wir wohl nicht berechtigt, auf Grund derselben von verschiedenen Streptokokkenarten zu sprechen; es dürfte sich vielmehr nur um verschiedene Wachstumsformen einer und derselben Art handeln.

Die anatomischen und bakteriologischen Befunde ergänzten wir durch die histologische Untersuchung der Fälle. In einzelnen Fällen wurden sämtliche Organe histologisch untersucht, in anderen nur die schon makroskopisch veränderten Organe. Es wurden die teils in Alkohol, teils in Pikrinsublimat, in Müller oder Müller-Formol konservierten Stücke in Celloidin oder Paraffin eingebettet und geschnitten. Die Färbung derselben erfolgte mit Hämalaun-Eosin, mit Loeffler'schem Methylenblau und nach Gram, nach Vorfärbung mit Lithionkarmin. Auch hier ergab sich in vielen Fällen eine völlige Uebereinstimmung, so daß wir die histologischen Befunde zusammenfassend mitteilen können. Zur folgenden Beschreibung wurden Präparate von Fällen, in welchen die Veränderungen besonders ausgeprägt waren, ausgewählt.

Fruchtsack. Die Mucosa desselben erscheint stellenweise bedeckt, mit einer körnig-krümeligen, detritusähnlichen Masse, welche einzelne polynukleäre Leukocyten und Epithelzellen einschließt und in der schon bei Hämalaun-Eosinfärbung zahlreiche Kokken, meist in kurzen Ketten angeordnet, sichtbar sind. Die Blut- und Lymphgefäße der Mucosa und Muscularis sind durchwegs sehr beträchtlich erweitert, erstere strotzend mit Blut gefüllt. In ihrer Umgebung finden sich im Bereiche der Muscularis herdwiese kleine Anhäufungen und Infiltrate polynukleärer Leukocyten. An einigen Stellen sieht man innerhalb solcher Herde reichlich körnig-krümelige Massen, die sich mit Hämalaun intensiv blau färben und oft die Leukocyten verdecken. Diese Massen werden zum größten Teil von kürzeren oder längeren Ketten von Streptokokken, die zu dichten Haufen zusammengedrängt sind, gebildet. Solche Herde erstrecken sich nach allen Richtungen zwischen die aufgelockerten Muskelbündel hinein, liegen aber stets in der Umgebung von Blut- und Lymphgefäßen. — In einem weiteren Stadium fehlt im Bereiche solcher Herde die Mukulatur der Fruchtsackwand fast vollständig und sind nur mehr stellenweise schmale Muskelbündel erhalten, so daß kleinere oder größere unregelmäßig begrenzte und vielfach verzweigte Hohlräume entstehen, die mit polynukleären Leukocyten, Gewebdetritus und Bakterienmassen gefüllt sind (Abscessse). Von diesen erstrecken sich nach allen Seiten zwischen die Muskelbündel schmalere und breitere Züge von Leukocyten, zwischen welchen reichlich Kokken eingelagert sind. An den nach Loeffler und Gram gefärbten Präparaten tritt der enorme Reichtum an Streptokokken besonders deutlich hervor, auch sieht man hier einzelne Lymphspalten ganz mit Streptokokken ausgefüllt.

Die Leber zeigte in sämtlichen Fällen das Bild mehr oder minder beträchtlicher fettiger Degeneration, indem sich in den Leberzellen, und zwar namentlich in der Peripherie der Acini kleinere und größere Fetttropfen finden, die bisweilen die ganzen Leberzellen einnehmen. In jenen Fällen, in denen bei der Sektion Peritonitis gefunden worden war, fand sich auf dem serösen Ueberzuge der Leber eine mehr oder minder breite Schicht fibrinös-eiterigen Exsudates, in welchem reichlich Streptokokken liegen.

In dem einen Falle (No. 1), in dem bei der Sektion der beschriebene keilförmige Herd gefunden worden war, ergab die histologische Untersuchung folgenden Befund: Der Herd hat auf Schnitten, welche durch seine Mitte geführt sind, eine annähernd dreieckige Gestalt, mit der Basis gegen die Leberoberfläche gerichtet. Fast in seiner ganzen Ausdehnung sind die Leberzellen nicht mehr sichtbar, nur gegen die Spitze zu noch undeutlich erkennbar, indem sich hier ein ziemlich homogen rot gefärbtes Gewebe findet, das wohl keine Kernfärbung mehr annimmt, aber noch die Struktur von Leberzellbalken erkennen läßt. Zwischen diesen finden sich Züge und Anhäufungen ein- und mehrkerniger Leukocyten mit stark gelappten und fragmentierten Kernen, zwischen denselben auch krümelige Detritusmassen und Kokkenhaufen. Gegen die Basis des Herdes zu findet sich an Stelle des Lebergewebes ein mit Fibrin und Leukocyten erfüllter unregelmäßig begrenzter Hohlraum. — Unterhalb dieses eben beschriebenen dreieckigen Herdes findet sich ein vollkommen gleich beschaffener, etwas kleinerer Herd. In der Umgebung desselben sind einzelne Leberacini teilweise oder in ihrer ganzen Ausdehnung nekrotisch. In dem interacinösen Bindegewebe des angrenzenden Lebergewebes finden sich kleinere Infiltrate, die größtenteils aus einkernigen Leukocyten bestehen. Bei der Gramschen Färbung sieht man in den oben beschriebenen Herden, namentlich aber in den peripheren Parteen, reichlich Streptokokken.

Die Nieren zeigen das Bild trüber Schwellung und fettiger Degeneration. In einigen Fällen finden sich besonders zwischen den Tubuli recti kleinere oder größere Haufen von Streptokokken.

Der Herzmuskel läßt die Querstreifung nicht deutlich erkennen. Auch findet man teils in Kapillaren, teils zwischen einzelnen Muskelbündeln dichtere und zartere Haufen von Streptokokken.

In jenen Fällen, in welchen auch die Lungen Veränderungen zeigten, finden sich bei der histologischen Untersuchung größere Gruppen von Alveolen, ausgefüllt mit polynukleären Leukocyten, zwischen welchen sich krümeliger Detritus (entsprechend geronnener, eiweißhaltiger Flüssigkeit) und Fibrin findet. Daneben sieht man große Mengen von Streptokokken innerhalb der Alveolen. Bisweilen fehlen im Bereiche dieser Herde die Alveolen, indem sich kleine Abscesse, die mit polynukleären Leukocyten und Unmengen von Bakterien gefüllt sind, gebildet haben.

Die histologische Untersuchung ergab somit in den meisten Fällen als wichtigsten Befund eine eiterige Entzündung der Fruchtsackwand, die alle Schichten betraf und mit Absceßbildung einherging. In dem Herzen, der Leber und den Nieren fand sich eine parenchymatöse und fettige Degeneration bzw. Infiltration. In einigen Fällen fanden sich in den Lungen lobulärpneumonische Herde, die zur Abscedierung führten.

In allen untersuchten Organen konnten auch bei der histologischen Untersuchung reichlich Streptokokken nachgewiesen werden, während andere Bakterien fast durchwegs fehlten und sich nur in den Lungen außer Streptokokken andere Bakterien (Stäbchen) fanden.

Bei den am Ende der Tragzeit verendeten Tieren wurden auch die Kötyledonen und einzelne Organe der Föten histologisch untersucht. In allen Fällen findet man in den Kötyledonen da und dort kleine Infiltrate, und in den nach Gram gefärbten Schnitten sieht man reichliche Streptokokken, die in Fall 12 und 14 kurze, in Fall 7 ganz ungewöhnlich lange Ketten bilden. Die Untersuchung der Organe der Föten ergab meist keinen bemerkenswerten Befund.

Die erhobenen Befunde, zumal der bakteriologische Befund, sowie der Nachweis von Streptokokken im Herzblut jener Tiere, die ohne Lokalisation des Krankheitsprozesses in den inneren Organen unter dem Bilde der Septikämie zu Grunde gegangen waren, legen es nahe, die fast regelmäßig und oft in Reinkultur gefundenen Streptokokken als Erreger dieser puerperalen Erkrankung der Meerschweinchen anzusehen. Entsprechend der Kochschen Forderung galt es aber noch, diese Annahme durch den Tierversuch einwandfrei zu beweisen.

Zu diesem Zwecke wählte ich zwei starke, augenscheinlich gesunde Meerschweinchen, die erst vor kurzem geworfen hatten und infizierte sie intrauterin mit einem Streptokokkenstamm, den ich 12 Tage vorher aus der Leiche eines der oben zitierten Tiere gezüchtet hatte. Ich benutzte eine ziemlich dichte Aufschwemmung einer 24-stündigen Kultur, 9. Uebertragung. Wie oben bereits mitgeteilt, hatten sich die gezüchteten Streptokokken anderen Versuchstieren und nicht trächtigen und nicht puerperalen Meerschweinchen gegenüber als nicht pathogen erwiesen.

Die Methode, welche ich anwendete, war folgende. Ein sehr feiner halbweicher Hohlkatheter, der vorher im Autoklaven sterilisiert worden war, wird nach gründlicher Reinigung der äußeren Geschlechtsteile und deren Umgebung durch die Vagina in eines der beiden Fruchtsackhörner vorsichtig eingeführt, was nach einiger Uebung nicht zu schwer gelingt. An den Katheter, der nahe seiner Spitze gefenstert ist, wird nun rückwärts eine sterile Spritze angesetzt, die eine Aufschwemmung einer 24-stündigen Agarkultur in Bouillon enthält. Diese wird nun unter Anwendung eines möglichst geringen Druckes entleert, wobei die Streptokokken sicher in den Fruchtsack gelangen, ohne daß eine Verletzung desselben oder gar seines peritonealen Ueberzuges erfolgt. Ich ziehe deswegen die von mir geübte Methode der von Caselli¹⁾ vor,

1) Caselli, Experimentelle und bakteriologische Untersuchungen über das Puerperalfieber. (Centrabl. f. Bakt. etc. Bd. XXV. p. 5.)

welcher bei der intrauterinen Infizierung von Kaninchen mit Erysipelstreptokokken, dies per laparotomiam ausführte, indem er in den hervor geholten Fruchtsack mittels einer Pravaz-Spritze seine Kulturen injizierte, wobei er, wie er selbst mitteilt, es nicht verhindern konnte, daß etwas von der Kultur in die Peritonealhöhle gelangt.

In der oben beschriebenen Weise infizierte ich also zwei puerperale Meerschweinchen mit einem der gezüchteten Streptokokkenstämme. Das eine der beiden Tiere „N“ hatte vor 4 Tagen, das andere „E“ vor 2 Tagen geworfen.

Am Abend nach der Infektion hatte Meerschweinchen „N“ eine Temperatur von 38,9°, am nächsten Tage früh 39,7°, abends 39,8°. Am zweiten Tage verendete es, nachdem es den Eindruck eines schwer kranken Tieres gemacht hatte.

Meerschweinchen „E“ hatte am Abend des Versuchstages 39,1°, am nächsten Tage früh 39,6°, abends 40,5°, am zweiten Tage früh 39,8°, abends 40,2°, am dritten Tage früh 39,8°. Am Nachmittag ging es ein.

Die Sektion ergab folgende Befunde:

1) Meerschweinchen „N“.

Bei Eröffnung der Bauchhöhle findet sich in derselben reichlich eiteriges Exsudat. Aus der Vagina läßt sich Eiter in dicken Tropfen ausdrücken. Der Fruchtsack ist groß, blaurot verfärbt, mit Pseudomembranen bedeckt. Nach Eröffnung desselben zeigt sich eine schwere, eiterige Endometritis, fettige Degeneration der Leber und des Herzmuskels, trübe Schwellung der Nieren. — Die Milz groß. — Die Lungen und Pleuren frei.

Ein aus dem Fruchtsackinhalt gemachtes Deckglaspräparat zeigt reichlich Streptokokken in kurzen Ketten.

Es wurden Agarplatten angelegt vom Peritonealexsudat, Fruchtsackinhalt, Herzblut und Milzsaft. Die beiden ersten und die letzte blieben steril, während aus dem Herzblute Streptokokken in Reinkultur in zahlreichen, äußerst zarten Kolonien aufgingen.

2) Meerschweinchen „E“.

In der Peritonealhöhle reichlich serös-eiteriges Exsudat. Auf dem serösen Ueberzuge der Leber und des Darmes da und dort locker anhaftende eiterige Beläge. Der Fruchtsack erscheint in seinem linken Horn unverändert, das rechte dagegen ist wesentlich größer, seine Serosa schmutzig blaurot verfärbt. Die Schleimhaut des Uterus mächtig geschwellt, mit Blutpunkten besät, mit zähem Eiter bedeckt. Ebenso die Vaginalwand. — Die Leber sehr groß, gelblichrot, die Nieren etwas gedunsen. — Die Milz sehr groß. — Der Herzmuskel brüchig, gelbbraun gefärbt. — In beiden Pleurasäcken reichlich serös-eiteriges Exsudat. Die Lungen ohne Veränderung.

Deckglaspräparate vom Fruchtsackinhalt und Peritonealexsudat zeigen reichlich Streptokokken in kurzen Ketten.

Kultiviert wurde Peritonealexsudat, pleuritische Exsudat, Herzblut, Fruchtsackinhalt auf Agarplatten. Auf den drei ersten Platten gingen reichlich zarte Streptokokkenkolonien auf, während die letzte steril blieb (obzwar im Deckglaspräparat aus dem Uterus reichlich Streptokokken zu sehen waren).

Der histologische Befund deckt sich in allem Wesentlichen mit dem weiter oben ausführlich beschriebenen Befunde bei den der Seuche anheimgefallenen Tieren: Schwere Endometritis und eiterige Lymphangitis des Fruchtsackes; fettige Degeneration der Leber und der Nieren. In

dem Exsudate im Cavum uteri, in der Mucosa und Muscularis des Fruchtsackes, besonders in den Lymphgefäßen, ferner in den Blutgefäßen der Leber, in den eiterigen Belägen auf dem Peritonealüberzug der Leber, endlich in den Kapillaren der Nieren und besonders auch in den Malpighischen Knäueln sind reichlich Streptokokken nachweisbar.

Aus diesen Befunden ergibt sich, daß wir bei den bis dahin gesunden puerperalen Meerschweinchen durch Infektion mit Streptokokken, die aus einer puerperalen Erkrankung eines anderen Meerschweinchens stammten, vom Uterus aus ein dem oben beschriebenen ganz analoges Krankheitsbild zu erregen im stande waren. Somit war auch dem dritten Punkte der Kochschen Forderung Genüge getan. In den untersuchten Fällen handelt es sich mithin um eine puerperale Erkrankung der Meerschweinchen, die durch Streptokokken hervorgerufen wird. Wir haben somit beim Meerschweinchen einen dem Puerperalprozeß des Menschen sowohl pathologisch-anatomisch als auch ätiologisch analogen Krankheitsprozeß vor uns.

Nachdem wir so bei einem unserer gewöhnlichen Versuchstiere¹⁾ ein Krankheitsbild gefunden hatten, das einem Krankheitsprozeß des Menschen in ätiologischer wie in anatomischer Beziehung entsprach, so lag es nahe, verschiedenen Fragen, die sich aus den klinischen Beobachtungen am Menschen nicht beantworten lassen, auf dem Wege des Experimentes am Versuchstiere näher zu treten.

Versuche mit vom Menschen stammenden Streptokokken, die man zur Bestimmung ihrer Pathogenität an Tieren ausprobiert, sind nicht beweisend, da wir wissen, daß Streptokokkenstämme, die für den Menschen oder eine bestimmte Tierspecies pathogen sind, für andere Species durchaus nicht pathogen sein müssen — und umgekehrt.

Die in den Geburtswegen nicht schwangerer und schwangerer Frauen, in den Locchien nicht fiebernder Wöchnerinnen gefundenen Streptokokken wurden auf ihre Pathogenität an Versuchstieren geprüft. Daß sie sich diesen gegenüber als nicht pathogen erwiesen, beweist noch durchaus nicht, daß sie puerperalen Frauen gegenüber nicht pathogen sind — eben wegen der Spezifität der Pathogenität einzelner Streptokokkenstämme für einzelne Species von Tieren.

Nun hatten wir einen dem Wochenbettfieber ganz analogen Prozeß beim Meerschweinchen gefunden, den wir auch experimentell erzeugen konnten. Untersuchen wir hier die in den unteren Geburtswegen gesunder Tiere möglicherweise vorkommenden Streptokokken auf ihre Pathogenität, so arbeiten wir hier mit Streptokokken derselben Species und vermeiden so den oben genannten Fehler.

Ich untersuchte nun zunächst die Vagina der Meerschweinchen auf das Vorkommen von Streptokokken. Es gelang mir regelmäßig, sowohl bei trächtigen als nicht trächtigen Tieren aus der Scheide neben anderen Bakterien Streptokokken zu züchten. Dieselben zeigten morphologisch und kulturell große Ähnlichkeit mit den oben geschilderten Streptokokken, die wir aus den durch puerperale Infektion getöteten Tieren gezüchtet hatten.

Kleine kulturelle Unterschiede zwischen den einzelnen Stämmen bestanden auch hier. Es war nun interessant an den Tieren, aus deren

1) Daß der Puerperalprozeß bei anderen Tieren, speziell unseren Haustieren, vorkommt, ist bekannt. So beschreiben Friedberger und Fröhner in ihrem Lehrbuch der spez. Pathologie und Therapie der Haustiere den Puerperalprozeß, das sog. Kalbfieber der Rinder, Pferde, Schweine.

Scheide wir die Streptokokken gezüchtet hatten, die Pathogenität dieser Mikroorganismen zu prüfen. Da ich speziell die puerperale Infektion untersuchte, wählte ich auch in diesen Versuchen den oben eingehend mitgeteilten Infektionsmodus, indem ich den Tieren durch einen sterilen, in den Fruchtsack eingeführten Katheter Aufschwemmungen der entsprechenden Streptokokkenreinkultur in den Uterus brachte.

Ein Meerschweinchen, aus dessen Vagina ich 7 Tage vor dem Wurf einen Streptokokkenstamm gezüchtet hatte, erhielt wenige Stunden nach dem Wurf ca. 2 ccm einer ziemlich dichten Aufschwemmung einer 24-stündigen Agarkultur dieses Streptokokkenstammes intrauterin injiziert. Während die Temperatur unmittelbar nach der Impfung 38,2° war, stieg sie abends auf 39,6°, den nächsten Morgen auf 40,2°, um dann rasch wieder auf 38,8° abzufallen, bei welcher Temperatur das Tier dann verblieb. Es machte durchaus nicht den Eindruck eines kranken Tieres, war munter und nahm gern das Futter.

Um die Temperaturkurven richtig zu deuten, lasse ich hier eine Reihe von Messungen von Kontrolltieren, ganz gesunden Meerschweinchen, folgen:

No.	Abendtemperatur	Morgentemperatur
12	39,3	39,4
78	39,3	39,0
7	38,8	38,6
8	39,1	38,6
9	39,2	39,2
4	39,0	38,7
2	39,1	39,0
59	39,0	38,8
56	39,1	38,8
61	39,3	39,1
46	39,0	38,8
49	39,0	38,3

Aus der vorstehenden Tabelle ist ersichtlich, daß die normale Temperatur der Meerschweinchen (rektal gemessen) zwischen 38,3 und 39,4 gelegen ist.

Unser Versuchstier hatte also außer einer geringen Temperatursteigerung am Morgen nach der Infektion keine Reaktion gezeigt, es blieb auch weiterhin gesund. Die eingeführten Streptokokken waren also nicht imstande, vom puerperalen Uterus aus eine schwerere Erkrankung des Tieres zu erregen.

Es könnte nun der Einwand erhoben werden, daß das Tier durch Resorption der toxischen Zerfallsprodukte des als ständiger Parasit in seinem Körper vorkommenden Streptokokkenstammes eine Art aktiver Immunisierung durchgemacht und so gegen eben diesen Stamm Immunität erworben habe. Um diesem Einwande zuvorzukommen, habe ich demselben Meerschweinchen 6 Tage nach der ersten Injektion von Streptokokken, also noch nicht zu lange nach dem Wurf, eine größere Menge einer 12-stündigen Streptokokkenkultur intrauterin injiziert, die ich aus der Scheide eines anderen Meerschweinchens einige Tage vorher reingezüchtet hatte. Und zweitens habe ich den im ersten Versuche benutzten Streptokokkenstamm einem anderen puerperalen Meerschweinchen injiziert. Dieselben Streptokokken brachte ich auch in reichlicher Aufschwemmung einem hochträchtigen Meerschweinchen ein, bei welchem Versuche ich aber mit dem Katheter nicht über den Cervikalkanal hinaus kam. Der größte Teil der Kultur wurde in der Vagina deponiert. Keines dieser Tiere zeigte irgendwelche Erscheinungen, alle blieben munter, die

Temperatur schwankte zwischen 38,3° und 39,3°, im Vergleich mit der oben gebrachten Temperaturtabelle der Kontrolltiere war also kein Fieber nachweisbar. — 5 Tage nach diesem Versuche warf das letzterwähnte Meerschweinchen. Von den 5 Jungen waren 2 tot. Der Obduktionsbefund derselben war, was unsere Frage betrifft, negativ. Die Agarplatten, die mit Herzblut und Milzsaft beschickt worden waren, blieben steril.

Das Tier selbst blieb wohl und fieberte nicht. 4 Tage nach dem Wurfe wurde es dann mit Streptokokken intrauterin infiziert, die aus der Leiche eines der puerperalen Infektion anheimgefallenen Tieres gezüchtet worden waren. Das Tier wurde schwer krank und verendete nach 48 Stunden. (Siehe oben Meerschw. „N“.)

Die aus der Vagina nicht gravid oder auch hochträchtiger Meerschweinchen gezüchteten Streptokokken vermochten also, in den puerperalen Fruchtsack von Tieren derselben Spezies eingebracht, keine Erkrankung hervorzurufen, während Streptokokken, die aus den der Epizootie erlegenen Tieren gezüchtet waren, die in gleicher Weise infizierten Meerschweinchen prompt töteten.

Wir können daher die in der Scheide der Meerschweinchen normalerweise vorkommenden Streptokokken als Saprophyten betrachten, denen bezüglich der Erregung der puerperalen Infektion der Tiere keine größere Bedeutung zukommt, als den anderen zahlreichen Bakterien der Scheidenflora.

Ob es sich bei den virulenten Streptokokken um ganz andere Stämme oder nur um eine Virulenzsteigerung eines Stammes handelt, deren Zustandekommen allerdings recht unklar wäre, läßt sich durch unsere bisherigen Versuche nicht entscheiden. Da die untersuchten pathogenen Stämme kein Hämolyisin bildeten, ist auch auf diesem Wege die Differenzierung nicht möglich.

Aus unseren Beobachtungen und Versuchen ergibt sich gleichwohl, daß auch hinsichtlich der Autoinfektion bei den Meerschweinchen dieselben Verhältnisse bestehen wie beim Menschen, indem auch hier der Beweis für die Autoinfektion nicht erbracht werden konnte.

Nachdem ich meine Untersuchungen abgeschlossen hatte, ersah ich aus einer Arbeit aus dem Dorpater Veterinärinstitut¹⁾, daß dort mehrere Jahre hindurch eine ganz analoge Epizootie puerperaler Meerschweinchen beobachtet worden ist, deren anatomische Befunde sich ganz mit den von uns erhobenen decken, als deren Erreger aber Schantyr einen zuerst von Semmer beobachteten kleinen Bacillus, den derselbe in seiner Arbeit eingehend beschreibt, regelmäßig nachweisen konnte.

Dies steht nicht im Widerspruch mit unseren Befunden. Wissen wir doch, daß auch der Puerperalprozeß des Menschen nicht stets von Streptokokken, sondern auch von anderen Bakterien (Staphylokokken, *Bact. coli*, *Diphtheriebacillus* etc.) hervorgerufen werden kann. Wir sehen also in dem oben Mitgeteilten eine weitere Analogie in der puerperalen Erkrankung des Meerschweinchens mit dem Puerperalprozeß des Menschen.

1) Schantyr, Deutsche Zeitschrift für Tiermedizin. Bd. XVIII. p. 21.

No.	Verendet	Sektionsbefund	Bakteriolog. Befund	Histologischer Befund
I	kurze Zeit nach dem Wurf	Herzmuskel gelbbraun, brüchig. Lungen normal; ebenso die Pleura und das Peritoneum. Die Leber sehr groß, fettgelb, brüchig, Abscess im rechten Lappen. Milz groß. Fruchtsack groß, dunkelblaurot verfärbt.	Leberabscess: reichl. Streptokokken, einzelne größere in-einanderfließende Kolonien (Stäbchen). Fruchtsackinnenwand: einige größere Kolonien, die zu einer Insel konfluieren sind. In ihrer Umgebung zahlreiche Streptokokkenkolonien. Milz: Streptokokken und einzelne Kolonien großer Stäbchen.	Fruchtsack: Endometritis u. eiterige Lymphangitis. Leber: hochgradige Fettinfiltration und -degeneration. Im Fruchtsack, im Leberinfarkt massenhaft Streptokokken nachweisbar. In den Nieren und im Herzmuskel Embolien von Streptokokkenhaufen.
II	einige Zeit nach dem Wurf	Die Brusteingeweide normal. Die Leber mäßig groß. Fruchtsack mäßig groß, bläulich verfärbt.	Herzblut: Streptokokken (Reinkultur). Fruchtsackinnenwand: Streptokokken (Reinkultur).	Fruchtsack: Endometritis, Abscesse in der Muscularis, eiterige Lymphangitis.
III	längere Zeit nach dem Wurf	Herzfleisch fettig degeneriert. Die Lungen und Pleura normal, ebenso das Peritoneum. Die Leber fettig degeneriert. Milz vergrößert. Fruchtsack scheinbar normal.	Herzblut: Streptokokken (Reinkultur). Fruchtsack: Streptokokken (Reinkultur).	Fruchtsack: Endometritis u. eiterige Lymphangitis.
IV	einige Zeit nach dem Wurf 30 Stdn. post exitum seziiert	Herzmuskel fettig degeneriert. Leber sehr groß. Nieren geschwollen, gelblich. — In der Peritonealhöhle reichlich trübe, bräunliche Flüssigkeit. Fruchtsack mittelgroß, bläulich verfärbt.	Herzblut: proteusähnliche Kolonien, alles überwuchernd. Fruchtsack: desgl. Peritonealexsudat: desgl.	Der Fruchtsack bietet histologisch keinerlei Veränderungen dar. Leber hochgradig verfettet. In den Nieren beginnende fettige Degeneration, trübe Schwellung.
V	längere Zeit nach dem Wurf	Herzfleisch gelbbraun, brüchig. Pleura und Peritoneum unverändert. Leber sehr groß, fettig, rötlich-gelb gefärbt. Milz groß. Nieren gequollen. Fruchtsack scheinbar normal.	Herzblut: reichlich Streptokokken, daneben vereinzelte Kolonien von Staphylococcus pyogenes albus. Fruchtsack: desgl.	Fruchtsack: kleinzellige Infiltration der Wand. Leber fettig degeneriert.
VI	kürzere Zeit nach dem Wurf 25 Stdn. post exitum seziiert	Herzmuskel gelb, brüchig. Lungen luftleer. Pleuren, Peritoneum unverändert. Leber groß, rotgelb gesprenkelt. Milz wenig vergrößert. Fruchtsack sehr groß, blaurot.	Herzblut: proteusähnlich. Stamm, der alles überwuchert. Fruchtsack: desgl.	Fruchtsack zeigt starke Injektion. In der Oedem.

No.	Verendet	Sektionsbefund	Bakteriolog. Befund	Histologischer Befund
VII	kurze Zeit vor dem Wurf	Herzfleisch fettig degeneriert. Der Oberlappen der linken Lunge infiltriert. Pleura und Peritoneum frei. Leber groß, fettgelb. Milz sehr groß. In den beiden Fruchtsackhörnern 5 Föten. Fruchtsack nicht wesentlich verändert.	Herzblut: Streptokokken (Reinkultur). Fruchtsack: Streptokokken (Reinkultur). Herzblut eines Fötus: Streptokokken (Reinkultur).	Fruchtsackwand zeigt keine wesentlichen Veränderungen. Leber fettig degeneriert. In der l. Lunge zahlreiche Abscesse, in denen neben anderen Bakterien massenhaft Streptokokken nachzuweisen sind. In den Kotyledonen ungewöhnlich lange Ketten von Streptokokken.
VIII	kurze Zeit nach dem Wurf 24 Stdn. post exitum sezisiert	Im Unterlappen der rechten Lunge entzündliche Infiltration. Pleuren frei, ebenso das Peritoneum. Leber ziemlich groß, rötlich gelb. Beträchtlicher akuter Milztumor. Fruchtsack groß, bläulichrot verfärbt.	Herzblut: proteusähnliche Kolonien, die ganze Platte überwuchernd. Milz: dieselben Kolonien, daneben einz. Streptokokkenkolonien. Fruchtsack: reichlich Streptokokken, daneben vereinzelte proteusähnliche Kolonien.	Fruchtsack: kleinzellige Infiltration der Mukosa und Submucosa. Leber: beginnende Fettinfiltration. In dem Entzündungsherd der r. Lunge die Alveolen mit Exsudat gefüllt, in dem sich zahlreiche Bakterien, meist Streptokokken, finden.
IX	längere Zeit nach dem Wurf	Herzfleisch gelb, brüchig. Rechte Lunge angewachsen. Linke Lunge zeigt einzelne kleine Entzündungsherde. — Auf dem Peritoneum trübe Auflagerungen. Leber groß, fettig gelb. Milz sehr groß. Fruchtsack scheinbar nicht verändert.	Herzblut: Streptokokken (Reinkultur). Milz: Streptokokken, daneben 3 größere, weiße Kolonien (nicht verfolgt). Fruchtsack: negativ.	In der Wand des Fruchtsackes entzündliche Infiltrate und kleinste Abscesse. Die r. Lunge stark infiltriert, die Bronchialepithelien abgeschilfert, die Alveolen mit Exsudatmassen gefüllt. In der l. Lunge vereinzelte kleine Herde, die ähnliche Verhältnisse zeigen.
X	kurze Zeit nach dem Wurf	Rechte Lunge locker angewachsen, im Oberlappen entzündliche Veränderungen. Peritoneum matt, getrübt. Leber groß, völlig gelb. Milz mäßig vergrößert. Fruchtsack groß, blaurötlich verfärbt, seine Serosa mit fibrinösen Auflagerungen bedeckt.	Herzblut: Streptokokken (Reinkultur). Milz: desgl. Fruchtsack: desgl.	Fruchtsack: Im Cavum eiteriges Exsudat. Endometritis. Absceschen im Myometrium. In der rechten Lunge eiterige Bronchitis. Die Alveolen in der Umgebung der Bronchien erfüllt mit polynukleären Leukocyten.
XI	kurze Zeit vor dem Wurf	Brustorgane unverändert, ebenso die serösen Häute. Leber etwas größer. Milz normal groß. Nieren unverändert. Fruchtsack: Beide Hörner groß, dunkel gefärbt, enthalten 5 Föten.	Herzblut: negativ. Fruchtsack: desgl.	Weder in der Fruchtsackwand, noch in den Kotyledonen entzündliche Veränderungen nachweisbar.

No.	Verendet	Sektionsbefund	Bakteriolog. Befund	Histologischer Befund
XII	kurze Zeit vor dem Wurf	Herzmuskel braungelb, Lunge ohne Veränderungen. Peritoneum parietale und viscerales zeigt fibrinöse Auflagerungen. Leber mäßig groß, rötlich-gelb. Milz groß. Fruchtsack: Rechtes Horn sehr groß, enthält 3 fast reife Föten. Linkes Horn leer. Beide dunkel verfärbt.	Herzblut: Streptokokken (Reinkultur). Fruchtsack: Streptokokken (Reinkultur). Herzblut eines Fötus: negativ	Fruchtsack: schwere Endometritis. Eiterige Lymphangioitis. Die Kötyledonen zeigen allenthalben kleine und größere Infiltrate von polynukleären Leukocyten und Haufen von Streptokokken in kurzen Ketten. Leber: beginnende Fettinfiltration. An einer Stelle der Oberfläche ein aus Leukocyten und massenhaften Streptokokken bestehender Belag.
XIII	kurze Zeit vor dem Wurf	Brusteingeweide normal. Seröse Häute unverändert. Leber und Milz von normaler Größe. Uterus enorm groß, überlagert alle Baueingeweide, enthält mehrere große ausgetragene Föten.	Herzblut: negativ. Fruchtsack: desgl.	In den Lymphspalten der Kötyledonen reichlich geronnene seröse Flüssigkeit. Nirgends entzündliche Veränderungen nachweisbar.
XIV	kurze Zeit vor dem Wurf	Lungen und Herz normal. Pleura und Peritoneum desgl. Leber etwas vergrößert, rötlich-gelb. Milz vergrößert. Fruchtsack in beiden Hörnern dunkel injiziert, enthält fünf Föten.	Herzblut: Streptokokken (Reinkultur). Fruchtsackinnenwand: Streptokokken (Reinkultur).	Die Mucosa des Fruchtsackes bedeckt von einer breiten Schicht eiterigen Exsudates. Kleinzellige Infiltration der Fruchtsackwand. In den Kötyledonen kleinzellige Infiltrate, in denen Streptokokken nachweisbar sind.
XV	kurze Zeit nach dem Wurf	Herzmuskel gelbbraun, Lungen normal. In der Peritonealhöhle trübes Exsudat. Leber groß, fettgelb gefärbt. Milz vergrößert. Fruchtsack groß, dunkelviolett gefärbt.	Herzblut: Streptokokken (Reinkultur). Fruchtsack: Streptokokken (Reinkultur).	Die Mucosa des Fruchtsackes bedeckt mit eiterigem Exsudat, darin massenhaft Streptokokken nachweisbar. Endometritis, eiterige Lymphangioitis. Auf Schnitten aus dem Herzen im Blute der Kammern Streptokokken nachweisbar.
XVI	kurz nach dem Wurf	In der linken Lunge vereinzelte Infiltrate. Die linke Pleura mit eiterigen Belägen bedeckt. Leber vergrößert, rötlichgelb. Milz auf das Doppelte vergrößert. Fruchtsack: das rechte Horn normal, das linke groß, blaurot verfärbt.	Herzblut. Streptokokken (Reinkultur). Milz: negativ.	In der Muscularis des linken Fruchtsackes hornes kleinzellige Infiltration. Die erweiterten Lymphgefäße enthalten spärlich Leukocyten und Streptokokken in kurzen Ketten. In der linken Lunge kleine Herde kleinzelliger Infiltration.

No.	Verendet	Sektionsbefund	Bakteriolog. Befund	Histologischer Befund
XVII	längere Zeit nach dem Wurf	Die Brusteingeweide normal. Leber groß, lehmfarben, Milz etwas vergrößert. Fruchtsack klein, blaßrosa.	Herzblut: Streptokokken (Reinkultur). Fruchtsack: Streptokokken (Reinkultur).	Histologisch nicht untersucht.
XVIII	längere Zeit nach dem Wurf	Im Herzbeutel reichlich seröse Flüssigkeit. Im Peritonealraum neben einem Blutcoagulum noch etwas flüssiges Blut. Leber sehr groß, fettgelb. Milz bedeutend vergrößert. Im linken Fruchtsackhorn eine gut haselnußgroße Anschwellung. Sonst normal.	Pericard Herzblut Fruchtsackinnenwand: negativ. Peritonealhöhle: Streptokokken (Reinkultur).	Der Knoten im linken Uterushorn besteht aus mehreren konfluierten Abscessen. Die Leber zeigt fettige Infiltration und Degeneration.
XIX	kurze Zeit nach dem Wurf	Der Herzbeutel enthält dickes, trübes Exsudat. Das Herzfleisch brüchig, braungelb. Leber groß, lehmfarben. Milz auf das doppelte vergrößert. Fruchtsack groß, blaurot verfärbt.	Herzblut: Streptokokken (Reinkultur). Milz: Streptokokken. Daneben zwei Kolonien von Staphylococcus pyog. alb. Fruchtsack: Streptokokken. Einzelne Kolonien von Staphylococcus pyog. albus.	Fruchtsack: Endometritis. In der Wand des Uterus zahlreiche kleinere und größere Abscesse mit massenhaften Streptokokken. Leber: Fettinfiltration und -degeneration hohen Grades. Nieren: parenchymatöse Degeneration.
XX	einige Zeit nach dem Wurf	Im Pericard reichlich klare Flüssigkeit, in beiden Pleurasäcken solche in geringerer Menge. Lungen und Herz sonst ohne wesentliche Veränderungen. Leber groß, lehmfarben. Milz etwas vergrößert. Fruchtsack etwas vergrößert, enthält ebenso wie die Vagina etwas verfärbtes Blut.	Herzblut Pericard Milz Fruchtsack: negativ.	Im Cavum uteri ein aus geronnenem serösen Exsudat mit spärlichen Erythrocyten bestehender Inhalt. Die Mucosa intakt. Die Lymphgefäße der Fruchtsackwand erweitert, mit geronnener Lymphe und vereinzelten Leukocyten erfüllt. Leber zeigt starke Verfettung.
XXI	ganz kurz nach dem Wurf (4 Junge gleichfalls verendet)	Herzmuskel gelbbraun. In der Peritonealhöhle blutig tingierte Flüssigkeit. Leber groß, rötlichgelb. Milz sehr groß. Der Fruchtsack groß, blaurot verfärbt.	Herzblut: Streptokokken (Reinkultur) sehr zarte Kolonien. Fruchtsack: Streptokokken (Reinkultur). Herzblut eines Fötus: negativ.	Fruchtsack: Endometritis und eiterige Lymphangitis. Leber zeigt Fettdegeneration und -infiltration.

No.	Verendet	Sektionsbefund	Bakteriolog. Befund	Histologischer Befund
Ver- suchs- tier „N“.	6 Tage nach dem Wurf 2 Tage nach dem Versuch	Herzmuskel gelbbraun, brüchig. Lungen und Pleuren normal. Im Peritonealraum reich- lich eiteriges Exsudat. Leber groß, fettgelb. Milz groß. Aus der Vagina läßt sich Eiter in dicken Tropfen aus- drücken. Fruchtsack groß, blaurot verfärbt, mit Pseudomembranen bedeckt. Die Mucosa mit Eiter bedeckt.	Herzblut: Streptokokken (Rein- kultur). Fruchtsack: Deckglas: Strepto- kokken. Platte steril.	Fruchtsack: Schwere Endometritis. Allent- halb und auch im Myometrium, dort besonders in den perivasculären Spalt- räumen Streptokok- ken nachweisbar. Leber fettig degeneriert.
Ver- suchs- tier „E“.	5 Tage nach dem Wurf 3 Tage nach dem Versuch	Herzmuskel gelbbraun, etwas brüchig. In beiden Pleurasäcken reichlich serös-eiterige Flüssigkeit, ebenso in der Peritonealhöhle. Auf dem serösen Über- zuge der Leber und des Darmes locker anhaf- tende eiterige Beläge. Leber sehr groß, gelb- lichrot. Die Milz groß. Nieren etwas gedun- sen. Fruchtsack: linkes Horn unverändert, rechtes wesentlich ver- größert, schmutzig graurot verfärbt. Die Schleimhaut ge- schwellt, mit Blut- punkten besäet, mit zähem Eiter bedeckt.	Herzblut: Streptokokken (Rein- kultur). Pleurit. Exsudat: Streptokokken (Rein- kultur). Peritoneal-Ex- sudat: Streptokokken (Rein- kultur). Fruchtsack: Deckglas: Strepto- kokken. Platte: steril.	Fruchtsack: Endome- tritis. Das Cavum uteri erfüllt mit reich- lich eiterigem Exsudat mit zahllosen Strepto- kokken. Diese auch im Myometrium nach- weisbar. Leber fettig degeneriert, in den Kapillaren massenhaft Streptokokken, ebenso in den Kapillaren der Niere, besonders in den Malpighischen Knäueln. Die Niere zeigt beginnende fet- tige Degeneration.

Nachdruck verboten.

Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires).

[2. Mémoire.]

La maladie vaccinale et son parasite (*Plasmodium vaccinae*).

Par F. J. Bosc, Professeur à l'université de Montpellier.

Avec 2 planches.

(Fortsetzung.)

Bientôt le protoplasma s'accroît, fait une saillie de plus en plus marquée dans l'espace conjonctif; il est sombre, finement granuleux et se sépare de la travée conjonctive avec laquelle il demeure en rapport par de fins prolongements. La cellule subit alors une hypertrophie claire du centre à la périphérie, atteint 5 à 6 fois le volume normal, tandis que le noyau présente des transformations de même ordre que pour la cellule épithéliale. Une plasmolyse disséminée aboutit à la formation de vacuoles puis à une vésiculation de la cellule conjonctive qui devient globuleuse, perd la plus grande partie de ses prolongements élargis par l'œdème et forme la grande cellule vaccinale. De même que la cellule épithéliale, celle-ci aboutit à la dégénérescence aqueuse totale. Dans les mailles formées par les prolongements

cellulaires il existe des cellules à type de Plasmazellen formées d'un protoplasma coloré et d'un noyau excentrique à chromatique rayonnée; ces cellules peuvent atteindre un grand volume et sont libres dans les mailles ou bien peuvent émettre des prolongements qui leur donnent l'aspect de cellules fixes. Nous avons vu que dans la partie superficielle de la zone conjonctive, c'est-à-dire au niveau de la partie la plus ancienne de la prolifération, les grandes cellules vaccinales tassées, avec de courts prolongements ou sans prolongements apparents, peuvent devenir difficiles à distinguer des cellules épithéliales à périphérie keratinisée. Nous avons vu également que la cellule conjonctive peut renfermer 2 ou plusieurs noyaux et prendre l'aspect d'une cellule épithélioïde et même d'une cellule géante.

3. Lésions vasculaires. Elles sont identiques à celles de la clavelée (64). Les cellules endothéliales prolifèrent par karyokinèse, subissent une hypertrophie claire colossale avec augmentation de volume du noyau qui, d'abord chargé de chromatine, devient vésiculeux, arrondi. Le protoplasma suit le mouvement du noyau, fait une saillie de plus en plus marquée dans la lumière et prend une forme irrégulière, avec des angles multiples. Au niveau des artères, l'on voit cette prolifération très active constituer une endartérite à tendance oblitérante. Les cellules conjonctives périvasculaires se tassent et forment un manchon épais de périvasculite de sorte que les vaisseaux qui traversent la néoformation vaccinale conjonctive frappent par l'épaisseur de leur paroi et l'hypertrophie de leur endothélium. On comprend les séquelles qu'un pareil processus de néoformation conjonctive peut laisser dans les organes après sa régression plus ou moins complète.

III. Le virus vaccinal.

A. Propriétés générales du virus.

1) Virulence des tissus et des humeurs. L'inoculation d'un vaccin parfaitement pur permettra seule d'obtenir les lésions vaccinales vraies et dans lesquelles la recherche de l'agent pathogène ne sera pas entravée par l'existence de phénomènes phlegmasiques. Le virus existe dans toutes les pustules d'inoculation, cornée, peau, poumons, mamelle, et dans chacune des parties, épithéliale ou conjonctive, de la pustule. Il demeure localisé un certain temps dans la pustule d'inoculation; les tissus intermédiaires à plusieurs pustules sont en effet dépourvus de virulence. Mais, quoique la démonstration directe n'ait pas été faite, le virus passe certainement dans le sang. Il faut nécessairement admettre ce passage du virus dans le sang pour expliquer l'éruption généralisée. Les expériences sur la virulence du sang sont à tenter, chez le poulain, et dans les conditions que j'ai indiquées pour la clavelée (42). L'expérience de Calmette et Guérin (38) démontrerait la persistance du virus dans le sang, car si, 24 heures après une injection intra-veineuse de vaccin dans le sang on rase la peau du dos du lapin inoculé, on obtient, en ce point une éruption caractéristique. Ce phénomène de l'appel du virus en circulation vers les points traumatisés est général aux maladies bryocytiques: si on fait de petites incisions à la peau d'un mouton de suite après inoculation de claveau, on voit lors de l'éruption généralisée, la localisation se faire de préférence aux points traumatisés; l'application d'un sinapisme chez un varioleux, dans la période prééruptive, entraîne un appel énergétique de l'éruption en ce point. L'expérience de Calmette et Guérin prouve en outre, au même titre que celle de Chauveau que, si le virus passe et reste quelque temps dans le sang, ce passage est très rapide et qu'il n'y a plus de virus en circulation après les premières 24 heures.

Le virus vaccin disparaît aussi très vite des humeurs de l'organisme: Après inoculation de virus dans la chambre antérieure de l'œil et sous la dure-mère le liquide de ces cavités perd rapidement toute virulence (Calmette et Guérin).

M. Raynaud a montré la virulence de la lymphe; les expériences

de Raynaud et Baillet sont demeurées négatives pour les ganglions lymphatiques, mais elles sont à reprendre avec une technique plus précise.

La salive et le liquide de jetage sont virulents, mais cette virulence est sans doute en rapport avec le ramollissement et l'élimination des pustules de la bouche et du nez. Chaumier et Rehns (57) ont constaté, après inoculation de vaccin dans les trayons, que le lait qui s'écoule au 7^e jour n'est pas virulent et qu'il ne le devient qu'avec l'élimination de fragments de pustules vaccinales intraglandulaires.

2) Réceptivité. Le cheval est l'animal sensible qui réalise la maladie vaccinale spontanée avec éruption généralisée. L'enfant, les bovidés, l'âne, le singe sont de bons vaccinifères. Le lapin a une sensibilité moindre que la génisse et l'enfant (Calmette et Guérin). Le porc, le chien, le cobaye, la chèvre, le mouton sont vaccinifères, mais moins bons. Il faut d'ailleurs insister sur ce fait que le degré de réceptivité est, pour une large part, en rapport avec chaque individu, même pour les espèces sensibles au vaccin, comme la génisse ou le lapin.

3) Mode de pénétration du virus. L'inoculation cutanée ou cornéenne peut produire, chez le cheval, une pustule suivie d'éruption généralisée; chez les autres animaux elle se limite à la pustule d'inoculation. Chez l'enfant et chez la génisse, il peut se produire, cependant, des éruptions généralisées. Nous avons montré que la voie intratrachéale ou pulmonaire pouvait servir de porte d'entrée au virus et donner naissance, chez le lapin, à des nodules pulmonaires. Pourquier avec l'inoculation intratrachéale, chez le veau, a pu produire une belle éruption pustuleuse du poumon. L'inoculation intramammaire produit des pustules dans la mamelle. L'inoculation intracérébrale aurait donné à Calmette et Guérin (38) des résultats positifs. L'inoculation intraveineuse est suivie, chez le poulain d'une éruption généralisée (Chauveau); elle ne provoquerait, chez les autres animaux, qu'un état réfractaire. L'expérience de Calmette et Guérin tendrait à démontrer qu'un traumatisme cutané peut provoquer une éruption à la peau, chez un lapin inoculé dans les veines; malheureusement elle n'a pu être vérifiée par d'autres auteurs [Rehns] (58).

4) Résistance du virus. Il faut une température d'au moins 48° C pour stériliser le vaccin (Cory). Après 24 heures à 41° C, le vaccin est fortement atténué; après 24 heures d'une température de 37 à 30° C, il ne se produit qu'une légère atténuation. Le virus vaccinal est donc bien moins sensible à la chaleur que le virus clavelleux. La lumière l'atténue très à la longue. La dessiccation permet de conserver sa virulence pendant un temps considérable. Les expériences de Chauveau (1) montrent que l'on peut faire des dilutions très étendues de vaccin sans faire disparaître la virulence. La glycérine qui conserve assez mal le clavelleux, est le meilleur milieu de conservation du vaccin; la outre, par son action atténuante sur les microbes, elle permet d'obtenir un vaccin bactériologiquement pur. Après un séjour de 4 mois en glycérine, le vaccin peut être considéré comme dépourvu de bactéries nocives et sa virulence spécifique peut se conserver encore 6 mois et même un an. La nature, le nombre et la virulence des microbes associés entrent pour beaucoup dans la rapidité d'atténuation du vaccin. Gorini et A. Foa ont montré la persistance de la virulence dans la glycérine concentrée.

Dans l'eau distillée, le vaccin est encore virulent au 9^e jour (62); dans les solutions salées à 2 et 10%, la virulence persisterait encore au 4^e jour, et dans la solution saturée de NaCl elle était encore très nette après 24 heures (A. Foa).

5) Variations de virulence. Le virus prélevé sur le poulain est le plus actif et donne, chez la génisse, les pustules les plus volumineuses. Le vaccin s'atténue par passage sur des espèces moins sensibles, mais cette atténuation n'est pas définitive car si on le rapporte chez le poulain il peut donner une éruption généralisée. La virulence n'est pas atténuée par des passages sur des individus de même espèce, à condition que ces individus soient des vaccinifères également sensibles. Le passage sur des individus mauvais vaccinifères l'atténue de plus en plus et c'est ce qui explique la diminution de virulence de certaines récoltes de vaccin, mais il est difficile de dire si cette atténuation est définitive; il faudrait faire la preuve, non chez des animaux partiellement réfractaires mais chez le poulain.

B. Recherche de l'agent virulent.

Tous les microbes trouvés dans les lésions vaccinales sont dûs à une infection secondaire. L'ensemencement de la surface de coupe d'une pustule au 4^{me} jour sectionnée par sa face profonde virulente ne donne pas de culture pas plus que l'ensemencement d'une vésicule de génisse à son début. Enfin nous avons dit qu'après un séjour de 4 mois en glycérine, un vaccin actif peut se montrer strictement stérile. Ces faits ne permettent pas de penser à la nature bactérienne du virus vaccin; d'autres nous entraînent à considérer ce virus comme un parasite vrai intracellulaire:

Le virus demeure d'abord limité à la pustule d'inoculation purement cellulaire et surtout épithéliale de la cornée et lorsqu'il passe dans le sang il va aux épithéliums. Dans la pustule cutanée jeune le virus existe dans la partie superficielle épithéliale puis la partie conjonctive devient virulente avec l'apparition „des grandes cellules vaccinales“. Non seulement le virus n'est pas uniquement enfermé dans la lymphe, car le raclage des cellules épithéliales de la pustule cornéenne est virulent dès le début, mais la lymphe renferme bien moins de virus que la partie solide de la vésicopapule. La réaction de l'organisme devant le virus est tout à fait spéciale et se traduit par une prolifération cellulaire pure, karyokinétique et de type néoplasique, sans trace de processus phlegmasique banal. En outre l'action du virus se marque par une excitation de la nutrition des éléments cellulaires qui ne sont épuisés qu'après une période plus ou moins longue d'hyperactivité.

Le virus vaccinal a donc une action directe et prolongée sur la vie intime des cellules; il agit non comme un microbe ordinaire, mais comme un parasite vrai. Il ne tue pas d'emblée la cellule-hôte, mais il produit, au contraire, une hypernutrition qui lui permettra de vivre et de se développer à ses dépens, et il provoque par division karyokinétique, une prolifération capable de fournir un milieu favorable aux parasites néoformés. Or, l'étude des lésions vaccinales pures montre qu'il existe dans les cellules de la prolifération épithéliale et conjonctive des formations spéciales, des „inclusions“, situées dans le protoplasma et que ces inclusions se présentent avec des caractères identiques aux inclusions claveleuses que nous avons considérées comme relevant d'un être organisé à développement intracellulaire.

On a objecté contre la nature des inclusions, celles de la clavelée, en particulier, le passage du virus à travers les bougies de porcelaine: Les inclusions seraient trop volumineuses pour passer, et comme on ne trouve rien, à l'examen direct, dans le filtratum virulent, il s'agirait de „microbes invisibles“. Mais nous avons indiqué (52) que la filtration à travers les bougies n'impliquait pas nécessairement une nature bactérienne du virus, parce que d'une part, le virus claveleux ne filtre qu'accompagné de microbes parfaitement visibles sans qu'il soit lui-même colorable et que, d'autre part, les inclusions présentent à côté de formes volumineuses, des formes minimales très difficiles à colorer dans le liquide et tellement petites qu'elles sont à peine visibles avec les plus forts grossissements. Elles peuvent ne pas dépasser $\frac{1}{8}$ ou un dixième de μ et sont donc capables de traverser les filtres (Compt. rend. soc. biol. 1903. 17 oct.).

La constatation parmi les inclusions vaccinales de formes de reproduction aussi exiguës que celles de la clavelée permet d'admettre les résultats de Santori qui aurait obtenu par filtration de pulpe virulente sur du charbon de cornue, sous pression de 3 à 400 atmosphères, un liquide susceptible de produire des pustules vaccinales typiques par inoculation à la peau de l'homme et à la cornée du cobaye. Casagrandi (56) en filtrant la pulpe sur des bougies très fines obtient un filtratum qui ne cultive pas et qui injecté sous la peau du chien l'immunisé contre la pulpe vaccinale active, mais n'agit pas chez l'homme. Ces expériences sont rendues difficiles par la réceptivité diminuée des animaux de laboratoire.

1) Distribution et forme générale des inclusions.

Les inclusions existent dans toutes les lésions vaccinales virulentes, peau et poulmons. Pour éviter les erreurs, une technique irréprochable est nécessaire:

Nous avons employé les méthodes indiquées plus haut en prenant comme méthode-étalon la fixation par le Flemming fort avec coloration par la safranine et le picro-indigo-carmin. Comme méthodes de différenciation importantes, pour les inclusions, nous citerons la fixation par le Tellyesniczki suivi d'hématoxyline ferrique et de Van Gieson, le sublimé suivi d'hématéine et d'éosine, du triacide d'Ehrlich, de thionine, de bleu de Roux etc. Mais nous signalerons comme extrêmement importante pour la coloration des inclusions, la méthode de Mann. Cette méthode appliquée par Negri à l'étude du parasite de la rage (60) est remarquable par son électivité pour les parasites vaccinaux et la netteté avec laquelle elle met en évidence leurs formes les plus minimales. Nous avons montré (53, 59) la portée générale de cette méthode dans l'étude des parasites de la clavelée, de la vaccine, de la variole . . . etc., en montrant que l'hématozoaire de la malaria et les protozoaires, en général, participaient de réactions identiques¹⁾.

Nous avons étudié à l'aide de ces diverses méthodes: Des coupes fines de pustules de la peau et de la cornée; des coupes de masses pulpaies de génisse; des râclages de pustule fixés à l'état frais dans le Flemming; de la lymphe et de la pulpe vaccinales fixées par le procédé que nous avons dénommé „procédé de la goutte“ (on fait tomber une grosse goutte de lymphe ou de pulpe dans une grande quantité de Flemming et de sublimé et la goutte est coupée en coupes très minces et colorée).

1) Nous avons suivi la méthode de Mann telle qu'elle est indiquée par son auteur. La voici résumée: Après fixation par le Zenker, le sublimé ou l'alcool: Des coupes très fines sont colorées dans le mélange suivant: Wasserblau en solution aqueuse à 1%, 35 centimètres cubes; solution d'éosine dans l'eau à 1%, 45 cent. cubes; eau distillée 100 cent. cubes. Après 24 heures, laver à l'eau distillée, des hydrater soigneusement dans l'alcool absolu; différencier dans un vase contenant 30 ccm d'alcool absolu auquel on a ajouté cinq gouttes d'une solution de potasse caustique dans l'alcool absolu à 1%; laver soigneusement à l'alcool absolu; laver à l'eau distillée, à l'alcool absolu au toluène et monter dans le baume.

a) Inclusions dans les coupes de pustules de la cornée.

Les inclusions existent dès le début de la prolifération. E. Pfeiffer aurait vu des inclusions très volumineuses, dès la première heure, mais ses figures montrent qu'il ne s'agit pas d'inclusions vraies; Wasielewsky, Hückel en ont noté dès la 3^e heure et Gorini (35, 46) a montré que des corpuscules très fins, en poussière chromatique, accompagnent les premières manifestations de l'hyperactivité cellulaire. Les inclusions atteindraient leur nombre maximum au bout de 3 fois 24 heures, pour diminuer au 6^{me} jour et disparaître totalement au 18^{me} (Gorini) ou au 21^{me} (Wasielewsky).

Nos recherches nous ont montré que les formes les plus exigües se montrent très nettement dès la 12^{me} heure, parfois avant, mélangées aux formes d'origine (introduites par l'inoculation) mais que l'étude des inclusions devenait surtout intéressante à partir de la 35^{me} heure.

Pustule de 36 heures (fig. 23, Pl. I): Les inclusions sont exactement limitées à l'étendue du foyer de prolifération et s'étendent en rayonnant autour du point d'inoculation; les formes les plus volumineuses dîtes au développement des formes d'origine sont au centre et, à mesure que l'on va vers la périphérie, il se fait un développement très actif de formes minimales. Les grandes cellules épithéliales claires du centre, y compris les cellules des sphérules (cellules *a* et *i*, fig. 23, Pl. I), renferment les inclusions d'origine de grand volume, à divisions chromatiques nombreuses (*x*, *o* fig. 23, Pl. I) ou de inclusions un peu plus petites et ondulées à grains chromatiques plus volumineux (*x*, *s* fig. 23, Pl. I). Les inclusions diminuent de volume à mesure que l'on s'éloigne du centre et sont remplacées par des inclusions de 6 à 4 μ à un seul grain chromatique (*m* fig. 23, Pl. I) que l'on peut aussi constater dans la cellule centrale des sphérules (*s* fig. 23, Pl. I). Au-delà on ne rencontre guère que des inclusions dépourvues de protoplasma, fortement colorées en rouge par la safranine et la méthode de Mann, de forme très variable, en gourd, en levures (*g*, *g*, *r*, *r* fig. 23, Pl. I), et qui diminuent de plus en plus, pour aboutir à des formes corpusculaires disposées en cocci en diplocoques ronds (*d* fig. 23, Pl. I) ou lancéolés, de taille variable depuis $\frac{1}{2}$ μ jusqu'à des formes minimales qui sont à la limite de la visibilité avec les plus forts grossissements et ne dépassant pas $\frac{1}{5}$ ou $\frac{1}{10}$ de μ (voir dans les cellules *po*, *h*, *p*, *pq* fig. 23, Pl. I).

Les inclusions sont toujours enfermées dans le protoplasma des cellules et les plus fines peuvent exister au nombre de 15 et 20 (cellules *po*, *p*, *i* fig. 23, Pl. I) dans une même cellule et il est à remarquer que ces formes très petites n'existent pas seulement dans les cellules de la périphérie, mais il y en a un grand nombre dans la plupart des cellules du centre qui renferment ou avoisinent une forme volumineuse d'origine à fines divisions chromatiques, comme si les formes minimales dériveraient des formes volumineuses en voie de division (cellule *i* fig. 23, Pl. I).

On peut donc penser de ces faits qu'il se fait une pullulation complètement intracellulaire très active qui va en rayonnant du centre à la périphérie du foyer épithélial et qui paraissent naître des inclusions volumineuses centrales (inclusions d'origine), produit une grande quantité de formes à différents degrés de développement, mais surtout des formes très-petites qui envahissent les cellules périphériques.

Pustule de 48 heures (fig. 1, Pl. I): Le foyer vaccinal bien plus étendu, à grandes cellules en hypertrophie claire, ne renferme guère maintenant que des inclusions protoplasmiques nucléées, amiboïdes de 3 à 8 μ (*d*, *d* fig. 1, Pl. I). À mesure que l'on va vers la périphérie, le protoplasma des inclusions se réduit (*h*, *h* fig. 1, Pl. I) et on aboutit à des formes corpusculaires cocciques (*i*, *i* fig. 1, Pl. I) ou diplococciques (*x*, *x* fig. 1, Pl. I) de 1 μ , $\frac{1}{2}$ à 1 μ , puis d'une extrême finesse (*s*, *s*, *r*, *r*, *r* fig. 1, Pl. I). Les formes d'origine ont disparu; il existe surtout des inclusions de 3 à 8 μ d'un type à peu près uniforme, et, on remarquera qu'il n'y a plus qu'une seule des ces inclusions par cellule. On peut donc dire que les inclusions très petites qui étaient accumulées jusqu'au nombre de 15 et 20 dans les cellules de la pustule de 36 heures, ont essaimé, à mesure, dans les cellules néoformées de façon que chacune d'elles est entrée en possession d'une cellule-hôte qui servira à son développement. Ce n'est qu'à la périphérie, c'est-à-dire dans la zone de progression, que l'on rencontre plusieurs inclusions corpusculaires dans une même cellule.

Pustule au 3^{me} jour: Disséminées dans une prolifération épithéliale très étendue, les inclusions ont atteint leur nombre maximum. Les cellules du centre, du foyer c'est-à-dire les plus anciennes, renferment des inclusions volumineuses de 10, 15 et 20 μ .

formes plasmodiales arrondies, ondulées, pseudopodiques, qui contiennent des divisions chromatiques multiples, parfois très fines (fig. 8, Pl. I), parfois assez volumineuses (fig. 14 et 15, Pl. I) ou très volumineuses (fig. 20 et 21, Pl. I) et aussi des formes ayant l'aspect d'une morula (fig. 17, Pl. I) ou d'une cavité contenant des corpuscules pisciformes (fig. 18, Pl. I). En allant vers la périphérie, on retrouve une zone de corps protoplasmiques nucléés de 5 à 7 μ et de corpuscules chromatiques de 2 à 1 μ , puis, dans les cellules néoformées, des formes très fines. Nous assistons donc ici au développement complet des inclusions avec retour aux formes identiques à celles des inclusions d'origine de la pustule de 36 heures: Le cycle est donc complet.

Pustules du 4^{me} au 5^{me} jour (Vésiculation): Les grandes formes plasmodiales deviennent extrêmement nombreuses, prennent les aspects les plus divers et épuisent la nutrition de la cellule-hôte jusqu'à une plasmolyse totale. Les formes corpusculaires sont rares et ne se rencontrent plus que dans les cellules les plus périphériques dont l'activité prolifératrice diminue; il y a donc, à la fois, arrêt de l'accroissement cellulaire et de la pullulation des formes corpusculaires des inclusions. A cette période, il existe des inclusions de même ordre, dans les cellules conjonctives du chorion proliférées et en hypertrophie claire. Hückel avait déjà signalé l'existence d'inclusions dans les cellules du chorion de la pustule.

Pustules du 5^{me} au 8^{me} jour (Regression): La prolifération cellulaire s'est arrêtée, des polynucléaires infiltrent le chorion vascularisé, puis l'épithélium et toutes les cellules du foyer dégénèrent progressivement du centre à la périphérie dans la vésicule, jusqu'à disparition totale. Les granulations chromatiques des grandes inclusions plasmodiales se dissocient et tombent dans la lymphe où elles deviennent très difficiles à mettre en évidence.

Ainsi donc, l'on peut dire que les inclusions introduites par l'inoculation pénètrent certaines cellules cornéennes qui formeront le centre du foyer et s'y développent; elles donnent naissance à des formes corpusculaires très abondantes qui rayonnent du centre vers la périphérie du foyer, et se distribuent dans les cellules néoformées de façon que chacune finit par s'isoler dans une cellule-hôte où elle achèvera son évolution jusqu'au moment où l'immunisation de l'organisme arrêtera son développement, et celui de la prolifération épithéliale.

b) Les inclusions dans les coupes de pustules cutanées de lapin.

De même que dans la cornée, les inclusions apparaissent rapidement dans les cellules de la prolifération. La pustule au 3^e jour présentera le plus d'intérêt, avec sa vésiculation centrale, le large foyer de cellules hypertrophiques et son active prolifération périphérique.

Les cellules jeunes de la zone de progression renferment des inclusions corpusculaires chromatiques parfois à peine visibles (*bac, bac* fig. 2, Pl. II) ou ayant un volume de $\frac{1}{2}$, μ à 1,2 et 3 μ , de forme coccique ou diplococcique, colorées en rouge par la safranine, en rouge vif par la méthode de Mann, entourées d'une zone claire et situées dans un point quelconque du protoplasma cellulaire, souvent au voisinage du noyau (*b, b, b* fig. 1 Pl. II et *corp* fig. 2 Pl. II). A mesure que l'on pénètre dans la zone des grandes cellules claires, les inclusions deviennent volumineuses s'entourent de protoplasma et forment une petite masse amiboïde (*d, d, d* fig. 1 et 2 Pl. II), qui augmente de volume (12, 15, 25, 30 μ de diamètre) et présente des divisions chromatiques multiples. Ce sont alors des formes plasmodiales arrondies (*h, h, h* fig. 1 et 2, Pl. II) allongées (*m, m, m*) en croissant *g, g, g* fig. 1 Pl. II ou constituant des masses irrégulières (*r, r, r*) qui s'étirent dans divers sens avec des pseudopodes (*x, x, x* fig. 1 Pl. II et *pla* fig. 2 Pl. II) aussi irréguliers que ceux des plasmodies malarieux. Ces formes plasmodiales énormes qui renferment un grand nombre de divisions nucléaires, remplissent la presque totalité de la cellule-hôte (fig. 1 Pl. II); lorsqu'on s'approche de la vésicule, les plasmodies s'étalent encore davantage dans les cellules en dégénérescence aqueuse, se moulent sur le noyau entourent complètement celui-ci; puis dans les cellules globuleuses, utriculisées qui bordent la vésicule et deviennent libres dans la lymphe (*ky*, fig. 2 Pl. II), le protoplasma de l'inclusion se condense autour de chaque division chromatique (*mh, ky* fig. 2 Pl. II), pour former de petits corps protoplasmiques nucléés qui, lorsque la cellule se désagrège, se dispersent dans le liquide de la vésicule (lymphe).

Au voisinage de la vésicule, les cellules peuvent subir non seulement cette dégénérescence aqueuse utriculaire mais une dégénérescence kératocolloïde qui les transforme en une masse homogène dans laquelle les inclusions, longtemps nettes, finissent par disparaître avec la vitrification et la résorption progressive du protoplasma cellulaire.

Dans les pustules du rebord labial, dont la prolifération cellulaire est identique à celle du cancer (fig. 4), on trouve des inclusions de type variable, petites (*i*, *i*, *i* fig. 4) ou volumineuses et plasmodiales, à divisions multiples (*in* fig. 4); — on les trouve dans les cellules centrales des globes (*a* fig. 4), dans les cellules en croissant qui les entourent (*cr*, *cr* fig. 4) et dans les cellules à noyaux multiples ou dégénérées.

Dans les glandes sébacées, les cellules proliférées qui ont fait retour au type malpighien (métatypie) renferment des inclusions, de même que les grosses cellules sébacées qui existent encore parfois au centre et qui, hypertrophiées, globuleuses, à parois épaisses et capables de simuler un double contour, peuvent ressembler à un pseudokyste sporulé (*x*, fig. 4).

Les inclusions sont très nettes dans les grandes cellules vaccinales conjonctives claires qui avoisinent les proliférations épithéliales profondes; elles s'y présentent avec les mêmes formes plasmodiales multinucléées, de volume variable (*m*, *s*, *s*, *s* fig. 1, Pl. II). Elles deviennent plus petites à mesure que l'on va vers la profondeur, et sont alors moins faciles à observer, les cellules de la prolifération conjonctive diminuant plus rapidement de volume et présentant un protoplasma moins abondant que les cellules épithéliales.

c) Les inclusions dans la lymphe et la pulpe vaccinales de génisse.

Un fait important à noter c'est qu'il est très difficile de fixer et de colorer les inclusions vaccinales libres dans la lymphe. Il en est de même pour les inclusions libres dans les lymphes claveleuse et variolique et cette difficulté de fixation et de coloration a été notée pour certains protozoaires pathogènes. D'après Councilman les amibes de la dysentérie sont bien mieux conservés dans les coupes et Vincent indique qu'il n'est pas possible d'obtenir de bonnes préparations d'amibes par fixation après dessiccation du liquide dysentérique, quelle que soit la méthode employée. Si donc la coloration de lymphe vaccinale après étalement sur lames ne permet de constater rien de précis, ou ne peut pas conclure de ce fait à la non existence de parasites, mais seulement incriminer la défectuosité de la méthode.

Pour l'étude de la lymphe vaccinale, nous avons procédé comme pour étude des protozoaires, c'est-à-dire que nous l'avons étudiée, à l'état frais, avec ou sans coloration; puis nous avons cherché des méthodes, qui nous permissent de mettre en évidence, dans la lymphe, des inclusions libres faciles à rattacher aux formes intracellulaires.

La lymphe vaccinale fraîche, du 3 au 5^e jour, renferme, en dehors de quelques cellules utriculaires et de débris cellulaires ou leucocytiques, des corpuscules de volume variable, les uns extrêmement fins agités de mouvements browniens, d'autres atteignant 2, 3 et 4 μ de diamètre et formant de petites masses homogènes, jaune verdâtre, à bords ondulés et clairs et dont le centre est plus sombre autour d'un point très lumineux. La réfringence et la luminosité sont variables comme si elles se manifestaient successivement sur divers points de ces corpuscules, mais il est très difficile de dire s'il s'agit de mouvements véritables.

Guarnieri (5) avait décrit ces corps brillants, réfringents, ambrés et il leur attribue des mouvements amiboïdes; vous avons déjà étudié ces corps en 1898 (Thèse de Musso) puis denombreux auteurs les avaient observés. Gorini les trouve dans la lymphe bactériologiquement stérile; il suit leur développement en goutte pendante et voit apparaître des spores isolées ou réunies en groupes. Ishigami (47) constate dans la lymphe de veau que ces corps verdâtres sont donés de mouvements amiboïdes et se multiplient par scission et donnent naissance à des kystes libres. Funck observe dans la lymphe fraîche, non seulement ces corps réfringents, mais des boules lumineuses entourées d'une membrane et, chez le veau, des kystes ronds ou ovales, volumineux, renfermant des corps brillants qui seraient des spores (45).

Nous n'avons jamais rencontré, dans la lymphe vaccinale, de corps ayant la structure ni de spores, ni de kystes vrais. Les corps

arrondis qui ne dépassent pas $4\ \mu$ et apparaissent très brillants ne présentent aucune membrane. Certains des corps décrits par Funck, comme des boules arrondies, sont des leucocytes; d'autres ovaires on ronds avec leur membrane épaisse et leur contenu à grains brillants sont des cellules sébacées dissociées que l'on trouve surtout très nombreuses dans la pulpe vaccinale broyée. Dans la lymphe, la plupart des formations décrites par Funck comme des kystes sporulés représentent des cellules épithéliales utriculées, globuleuses, devenues libres dans la vésicule et renfermant un parasite plasmodial à divisions nucléaires nombreuses (morula); on constate en effet un noyau vésiculeux peu apparent. Il s'agit là de formations pseudokystiques qui renferment un protozoaire vaccinal à un stade déjà avancé de la division schizogonique.

Les corpuscules brillants qui constituent la morula intracellulaire sont réfringents, lumineux, ambrés et ressemblent aux corpuscules libres dans la lymphe.

Morphologiquement il y a une relation entre les corpuscules libres et les corpuscules intracellulaires. Gorini laisse vieillir de la lymphe qui contient de nombreux corpuscules jusqu'au 73 jour; il constate à ce moment qu'une partie des corpuscules persiste et que le vaccin est virulent. A. Foà a vérifié ces observations importantes de Gorini et a montré que toutes les lymphes vaccinales actives renfermaient des cytotryctes inclus dans des débris cellulaires, tandis que les lymphes fournies comme inactives par le Professeur Léoni n'en contenaient pas.

Les formes parasitaires libres perdraient donc plus rapidement leur virulence que les corpuscules enfermés dans les cellules et il est en effet certain que la lymphe vaccinale presque entièrement dépourvue de cellules est bien moins virulente que les produits de raclage ou de broiement de la pustule. C'est ce que Violi et Monti exprimaient en disant que le virus était surtout localisé dans les parties solides de l'éruption. Nos expériences sur le virus claveux nous ont montré également la plus grande virulence des raclages de pustule.

Anna Foà a fait remarques encore que si l'on fait macérer les cellules de la cornée qui contiennent des inclusions à fines granulations, dans de l'eau salée à 2%, on note la conservation des granulations dans le liquide avec persistance de sa virulence.

L'expérience de Funck qui consiste à pêcher dans la lymphe une des grandes cellules pseudokystiques, à la laver et à l'inoculer avec un résultat positif, montre tout au moins que la cellule était parasitée par cet amas de corpuscules identiques à ceux qui sont libres dans la lymphe.

Enfin les mouvements amiboïdes constatés par divers observateurs Guarneri (5), Pfeiffer, Plimmer (9), Ishigami (47) constitueraient un argument décisif mais ils sont contestés par d'autres et assurément très difficiles à observer. Anna Foà (62) observant de la lymphe de veau en goutte pendante à $39-40^{\circ}\text{C}$ a vu des corps libres, réfringents et identiques aux corpuscules vaccinaux qui étaient doués de mouvements amiboïdes indubitables et actifs. Cet auteur rejette cependant l'origine parasitaire de ces corps et admet qu'il s'agit de leucocytes: elle se base surtout sur leur nombre considérable alors que la lymphe est cependant peu active et sur ce que la coloration à l'hématoxyline ferrique donne des figures qui ressemblent à des leucocytes. Or l'examen de ces figures nous engagerait plutôt à penser que ces corps et en particulier le corps figuré en *b* fig. 7 Pl. VIII (Arch. de Parasitol. 1903) présente la forme, la structure et les réactions d'une inclusion vaccinale en division nucléaire.

Si au lieu de se limiter à l'observation de la lymphe pure qu'il est d'ailleurs difficile d'obtenir, on étudie le produit de fins raclages de la paroi vésiculaire, dissociés dans la lymphe ou dans les larmes (Guarneri) on observe dans les cellules des corps qui ont des formes variables et ressemblent à de volumineuses amibes. A côté de petites formes très brillantes on en observe de plus grandes qui contiennent plusieurs points brillants et parfois à la périphérie de fines granulations très réfringentes; on observe aussi des formes volumineuses, de 10 à $30\ \mu$ de diamètre. Celles ci remplissent la plus grande partie de la cellule sous forme d'une masse brillante ronde ou en fer à cheval, ou en croissant, émettant parfois des prolongements pseudopodiques étirés, arrondis, anastomosés et renferment de nombreux points brillants. Hückel avait déjà noté et figuré des formes identiques dans les cellules vaccinales à l'état frais: les fig. 170 à 175 de la Pl. IV de son mémoire sont très précises; ses fig. 176 à 178 représentant exactement les masses plasmodiales pseudopodiques que nous venons de décrire et qui ont l'aspect d'une volumineuse amibe.

L'examen de pulpe vaccinale dégénisse, provenant du broyage des pustules, et constituant le vaccin glyciné, permet de retrouver les corpuscules verdâtres libres et des formations intracellulaires qui ne diffèrent pas de celles que nous venons de décrire. Mais les pseudokystes constitués par des cellules sébacées isolées existent en grand nombre dans la pulpe de même que les cellules vésiculeuses à parasite plasmodial; mais on y trouve aussi d'autres masses pseudokystiques que nous avons décrites avec

l'étude des lésions de la pustule de la génisse et figurées en fig. 6. Nous avons vu qu'il s'agit de cellules colossales, en dégénérescence kératocolloïde, qui deviennent rondes ou ovales avec un bord réfringent et de gros grains disséminés dans leur intérieur autour d'un reste nucléaire. Ces grains représentant des formations parasitaires destinées sans doute à dégénérer avec la cellule.

Pour étudier plus nettement les formations libres ou intracellulaires il faut faire des colorations de la lymphe ou de la pulpe fraîches, comme Guarnieri, Salmon . . . l'ont fait. Ces corps se colorent par le bleu de méthyle, le bleu de Roux, le bleu de Löffler, la thionine, la safranine, la fuchsine acide l'éosine et on met en évidence un grain central qui, comme le dit A. Foà, présente la réfringence et la luminosité d'un nucléole. Le mélange à parties égales de glycérine et de triacide d'Ehrlich montre ces corps colorés en rouge vineux avec une ou plusieurs granulations d'un rouge réfringent. Si au lieu d'examiner la pulpe glycérinée on traite des produits de fin raclage de pustules par l'alcool au tiers de Ranvier, comme l'avait fait Salmon, la coloration par l'Ehrlich plus ou moins dilué donne d'excellents résultats. Nos nouvelles recherches n'ont fait que vérifier ce que nous avions déjà rapporté dans notre mémoire de 1901 (Arch. de méd. exp. Mai): „Les inclusions les plus petites apparaissent, dans les cellules, comme de fines granulations brillantes qui peuvent être nombreuses dans une même cellule. Les inclusions de 2 à 7 μ présentent des bords ronds, ondulés ou digités, sont formées d'une masse homogène à périphérie plus claire . . . et renferment un noyau verdâtre avec corpuscule central très réfringent ou un nombre variable de grains dispersés dans le protoplasma et parfois disposés en couronne. Dans certains cas, il se produit . . . des dépressions du protoplasma autour de chaque grain périphérique, d'où la formation de figures en marguerite . . . Les formes les plus volumineuses peuvent atteindre 20 μ et sont formées par une masse protoplasmique homogène étalée, rouge avec des granulations vertes disséminées . . . Certaines des figures de grande taille (25 à 30 μ) ont leur surface divisée en cercles de coloration différente . . . ainsi, on constate un corpuscule central vert entouré d'un petit cercle rose vif, puis vient un cercle lilas foncé ou bleu et un dernier cercle vineux homogène ou finement granuleux . . .“ Nous avons constaté en outre dans les cellules vacuolisées des corps plasmodiaux colorés en rose délicat avec de grains violacés, ou rouge sombre ou verts suivant que la coloration est élective.

Les formes qui présentent un grain central vert blenâtre entouré d'un petit cercle rouge, puis d'une zone bleue et enfin d'un cercle périphérique rouge à granulations correspondent à certaines des formes de Hückel qui, après le Biondi, présentent une large zone bleue avec un cercle périphérique de granulations rouges, mais nos observations nous montrent que les granulations ne sont pas libres; elles sont accolées à la surface ou situées dans la partie périphérique différenciée très délicate et mal colorable de l'inclusion. En cela, les inclusions vaccinales correspondent exactement aux inclusions de la clavelée.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Kuhpockenlymphe und Tetanus.

[Aus dem Institut zur Erforschung der Infektionskrankheiten Bern
(Direktor Prof. Tavel).]

Von Dr. A. Carlini, Chef der Vaccineabteilung.

Vereinzelte Mitteilungen über Tetanuserkrankungen nach Vaccination sind schon vor einer Reihe von Jahren gemacht worden. Man betrachtete sie jedoch früher stets als zufällige oder sekundäre Infektionen der schlecht gehaltenen und ulcerösen Impfstellen.

In einigen Orten der Vereinigten Staaten von Nordamerika traten nun in den letzten Jahren, speziell im Herbst 1901, mehrere Fälle von Tetanus nach Impfung auf und erfuhren teilweise Veröffentlichung (Willson, Findlay, Allen, Andrews etc.).

Eine Zusammenstellung aller bis dahin vorgekommenen Fälle mit der zugehörigen Literatur wurde von Mac Farland im Jahre 1902 herausgegeben. Er fand 14 derartige Beobachtungen in der Literatur

beschrieben und konnte selbst noch weitere 81 unbeschriebene Fälle hinzufügen. Die größte Zahl der erwähnten Erkrankungen stammt aus den Vereinigten Staaten, nur 3 wurden in Europa beobachtet.

Mac Farland hat die Frage nach allen Richtungen genau studiert und namentlich die ursächlichen Momente, die den betreffenden Erkrankungen zu Grunde liegen konnten, einer sorgfältigen Prüfung unterzogen und ist dabei zu dem Schlusse gekommen, daß für das Auftreten einer so großen Anzahl von Tetanusfällen eine sekundäre Infektion nicht verantwortlich gemacht werden kann, indem eine solche nur sporadische Fälle zu erklären im stande wäre. Er nimmt deshalb an, daß mit großer Wahrscheinlichkeit die bei diesen Fällen zur Verwendung gelangte Lymphe Tetanusbacillen enthalten habe.

Diese Ansicht wurde jedoch von der Commission of the Camden Board of Health (2), welche zum Studium der Angelegenheit eingesetzt wurde, nicht geteilt, indem es ihr nicht gelang, in der Lymphe, welche als Vermittler der Tetanusinfektion beschuldigt worden war, weder auf kulturellem Wege, noch vermitteltst des Tierexperimentes Tetanuskeime nachzuweisen. Auf Grund dieses Ergebnisses glaubte die Kommission annehmen zu müssen, daß die Lymphe in diesen Fällen nicht als Infektionsquelle angesehen werden dürfe, und suchte die Ursache für die nach Vaccinationen auftretenden Tetanuserkrankungen in den tellurisch-atmosphärischen Verhältnissen, indem zu jener Zeit eine sehr trockene Witterung herrschte, wobei naturgemäß ein Aufwirbeln von Staub und Unreinlichkeit stattfand und damit die Möglichkeit einer sekundären Infektion der Impfwunden gegeben war.

Eine vollständige Widerlegung erfuhr die Ansicht der Kommission durch die Untersuchungen von Wilson, dem es nachträglich gelang, in der Lymphe, welche aus der Zeit der beschriebenen Tetanuserkrankungen stammte, Tetanusbacillen nachzuweisen.

Diese auffällige Häufung von Tetanusfällen in den Vereinigten Staaten erweckte überall ernstliche Bedenken und lenkte auch unsere Aufmerksamkeit auf diese äußerst wichtige Frage.

Da Tetanussporen überall verbreitet sind und sehr häufig in Staub, im Mist, an Haaren etc. gefunden werden, so lag die Befürchtung nahe, daß sie auch in die Lymphe hinein gelangen können, ungeachtet der peinlichsten Sauberkeit und Vorsicht, die bei der Bereitung der Vaccine beobachtet wird. Daß eine solche Möglichkeit vorliegt, geht noch weiterhin aus der „fäkalen“ Theorie von Sormani hervor, nach der bei Grasfressern mit den Nahrungsstoffen Tetanuskeime in den Darmkanal der Tiere hineingelangen und unter den dort herrschenden günstigen Bedingungen nicht nur sich vermehren, sondern sogar in ihrer Virulenz erhöht werden können. Diese mit der Nahrung aufgenommenen Keime werden in vermehrter Anzahl mit dem Kot wieder abgesetzt und können unter Umständen eine Verunreinigung der Lymphe herbeiführen.

Von solchen Erwägungen ausgehend, habe ich in Gemeinschaft mit Herrn Apotheker Dorbritz die aufgeworfene Frage durch eingehende Untersuchungen zu entscheiden gesucht.

Unsere Versuche zum Nachweise von Tetanusbacillen haben wir in folgender Weise angestellt: Dickbauchige Glasröhrchen mit langen, engen kapillären Ausläufern werden bis zu $\frac{2}{3}$ ihres Inhaltes mit Bouillon gefüllt und sterilisiert. In diese Gefäße wurden nach jedesmaligem vorausgehendem Auskochen und raschem Abkühlen (zur Entfernung der Luft) mittels steriler Pipette einige Tropfen Lymphe gebracht und durch Um-

schütteln mit der Bouillon gut gemischt. Sodann wurden die Röhrchen vermittelst der Vakuumpumpe möglichst luftleer gemacht und abgeschmolzen.

Mit dieser Lymphe haben wir auf diese Weise jedesmal gleichzeitig 10—15 Röhrchen geimpft. Ein Teil der Röhrchen wurde direkt nach dem Zuschmelzen zur Abtötung der nicht sporentragenden Bakterien während ca. $\frac{1}{2}$ Stunde auf 80° erwärmt. Nach 8—14-tägigem Aufbewahren bei Brüttemperatur wurden die Röhrchen geöffnet und ihr Inhalt auf Bakterienwachstum geprüft.

Waren verdächtige Bakterien vorhanden oder erschien infolge des Geruches die Anwesenheit von Tetanusbacillen wahrscheinlich, so wurde die Kultur durch Tonkerzen filtriert und das Filtrat, das bei Anwesenheit von Tetanuskeimen die gebildeten Toxine enthalten muß, in Quantitäten bis zu 5 ccm Meerschweinchen injiziert.

Enthielten die betreffenden Kulturen Pseudotetanusbacillen, so verursachten die verimpften Filtrate keinerlei Krankheitserscheinungen, waren hingegen Tetanusbacillen vorhanden, so gingen die Tiere unter den typischen Erscheinungen des Starrkrampfes zu Grunde. Selbstverständlich haben wir uns bei der Diagnose des Tetanus nicht nur mit Tierimpfungen begnügt, sondern dabei auch die allgemein morphologischen und biologischen Merkmale herbeigezogen.

Was nun die Resultate unserer Untersuchungen anbetrifft, so haben wir in über 400 Einzelversuchen mit 50 verschiedenen, sowohl hiesigen wie auswärtigen Lymphproben, 5mal Tetanusbacillen nachweisen können.

Aus diesem Befunde geht hervor, daß Tetanusbacillen zur normalen Bakterienflora der Lymphe zu rechnen sind, daß sie aber nur selten und bloß in ganz geringer Anzahl in der Lymphe vorkommen, indem in einer Reihe von mit derselben Lymphe geimpften Röhrchen stets nur in einem Röhrchen Tetanusbacillen sich entwickelten.

Die Tetanusbacillen setzen der Einwirkung des Glycerins einen größeren Widerstand entgegen als die anderen Bakterien der Lymphe; dementsprechend fanden wir dieselben in der Tat in einer mehrere Monate alten Lymphe, in welcher die übrigen Mikroorganismen schon zu Grunde gegangen waren.

Die Anwesenheit einer so geringen Anzahl von Tetanussporen in der Vaccine bildet wohl keine erhebliche Gefahr, sonst hätten bei der heutigen Ausdehnung der Vaccinationspraxis Fälle von Tetanus im Anschluß an die Impfung häufiger zur Beobachtung kommen müssen.

So haben auch einige der betreffenden Lympharten, in denen wir Tetanussporen nachweisen konnten, zu Tausenden von Impfungen gedient, ohne daß sich daran irgend welche Komplikationen angeschlossen hätten.

Aber es bleibt zu bedenken, daß infolge nicht genügender Reinlichkeit oder aus anderen Gründen in einer Lymphe die Menge von Tetanuskeimen größer sein kann als wir dies feststellen konnten.

Die Anwendung einer derartigen Lymphe kann natürlich gefährlich werden. Nach unserer Ansicht sind die in den Vereinigten Staaten beobachteten Tetanusfälle als Folgen einer solchen an Tetanuskeimen reichen Vaccine zu bezeichnen.

Welche Verhaltensmaßregeln sind nun angesichts dieser Tatsachen geboten?

Es ist ratsam, die Impfungen mittelst oberflächlicher Skarifikation vorzunehmen und nicht mit Stichen, da durch letztere den in der Vaccine eventuell enthaltenen Tetanuskeimen die zu ihrer Entwicklung günstigen Bedingungen der Anaërobiose geschaffen werden können.

Aus demselben Grunde darf ein festanliegender Verband, der den Luftzutritt verhindern würde, nicht angelegt werden.

Für die Lymphgewinnungsanstalten wird es angebracht sein, vor Abgabe einer Lymphe sich vermittelt des oben beschriebenen Verfahrens zu vergewissern, daß dieselbe keine Tetanuskeime enthält, eine Vorsichtsmaßregel, die im hiesigen Institut jetzt stets beobachtet wird.

Literatur.

- Willson, Tetanus appearing in the course of vaccinia; report of a case. (Proceed. of the Philad. county med. Soc. 1901.)
 — An analysis of fifty two cases of tetanus following vaccinia. With referene to the source of infection. (Journ. of the Amer. med. assoc. 1902. No. 18 19.)
 Farland, Mac, Tetanus and Vaccination. An analytical of 95 cases of the complication. (The Lancet. Sept. 1902.)
 Findlay, Tetanus following vaccination on the leg. (Lancet. 1902. Febr.)
 Allen, Tuo of tetanus following vaccination. (Bost. med. and surg. Journ. 1902 März.)
 Andrews, Brit. med. Journ. April 1902.
 Colcott, Jon, The complication of vaccination. (Brit. med. Journ. 1902 July.)
 Graudwohl, Bakteriologische Befunde in einem letalen Falle von Tetanus nach Impfung. (St. Louis med. Rev. 1902 August.)
 Cooke, Report of a case tetanus following vaccination. (New York med. Journ. 1903 Jan.)

Nachdruck verboten.

Experimentelle Untersuchungen über die Wut. Filtration des Straßenvirus und Erschöpfung des Virus durch die Filter.

[Hygienisches Institut d. kgl. Universität Turin.
 Direktor: Prof. Dr. L. Pagliani.]

II. Bericht.

Von Dr. E. Bertarelli, Privatdozent und Dr. G. Volpino, Assistent.

Die Untersuchungen über die Filtration des Wutvirus sind in den letzten Monaten von verschiedenen Forschern fortgesetzt worden.

Wie wir bereits in unserm ersten Bericht erwähnt, ist es schon mehreren gelungen, das Wutvirus erfolgreich durch die Berkefeldschen Kerzen zu filtrieren; ganz neuerdings schließen sich ihnen die Arbeiten von Celli und Di-Blasi¹⁾, Wakelin Barrat²⁾ und die neuen Publikationen Remlingers³⁾ und Di-Vesteas⁴⁾ an.

Von einigen Ausnahmen abgesehen, kann man heute zu dem Schlusse kommen, daß das Wutvirus (wenigstens das fixe Virus) auch auf starke Pression hin die Chamberlandsche F-Kerze nicht passiert, dagegen relativ leicht durch die Berkefeldsche N, V und W.

Die Schlüsse, die sich aus diesen Vorgängen bezüglich der vermutlichen Größe des Wuterregers ziehen lassen, sind tatsächlich wenig absolut. Einer von uns hat sich damit kürzlich eingehend beschäftigt⁵⁾;

1) Celli und Di-Blasi, Deutsche med. Wochenschr. 1903. Dezember.

2) Wakelin Barrat, O., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXV. No. 5/6.

3) Remlinger, Annales Pasteur. 1904. No. 3, woselbst auch die früheren Arbeiten des Verfassers ergänzt sind.

4) Di-Vesteas, A., Giorn. ital. d. scienze med. 1904.

5) Volpino, Archivio per le scienze mediche. 1904.

hier wollen wir jedoch nur erwähnen, daß die Filtrationsproben den eventuellen parasitären Wert der Negrischen Körperchen nicht nur durchaus nicht ausschließen können, sondern auch nicht die entfernteste Idee von der verschiedenen Größe geben, die der Parasit in den verschiedenen Arten des Wutvirus (d. h. im fixen, Durchgangs- und Straßenvirus) und bei verschiedener Lokalisation aufweisen kann. Die Mehrzahl der bis heute mitgeteilten Proben betrifft das fixe Virus¹⁾. Deshalb haben wir unsere Aufmerksamkeit dem Straßen- und Durchgangsvirus zugewendet und mit diesen Substanzen die Filtration versucht.

Wie nun schon früher erwähnt, haben wir uns hauptsächlich damit abgegeben, nachzuforschen, ob das zweckmäßig zerriebene Wutvirus bei Filtration durch einen oder mehrere successive Filter erschöpft wird. Wenn es sich dann dabei zeigte, daß es einem gelingt, durch feinporige Filter bekannten Durchmessers den ganzen virulenten Teil des Zentralnervensystems zu filtrieren, derart, daß die Filterkerze und das Rückstandsmaterial nicht mehr virulent sind, so wäre es logisch, den Negrischen Körperchen, die (wenigstens bei Straßen- und Durchgangswut beim Hunde) auch durch die weniger engen Kerzenporen nicht ganz hindurch können, den ihnen zugeteilten Charakter elementarer Parasiten in Abrede zu stellen. Man könnte in diesem Falle daran denken, daß diese Körperchen entweder in Fragmenten unter einem starken Drucke durch den Filter passieren, oder daß die runden Innenkörperchen (von denen es einigen gelingen kann, durch die nicht zu feinen Kerzenporen hindurchzudringen) sich von dem sie umschließenden Körper getrennt und an und für sich infiziert haben. Trotz alledem würde die Stellung doch eine Modifikation erleiden, die man den Innenkörperchen und der Grundsubstanz des Negrischen Körperchens eingeräumt hat. Um nicht ungenau zu sein, fügen wir jedoch noch hinzu, daß selbst für den Fall, daß das Filterrückstandsmaterial nicht mehr infizierend wäre (auch gesetzt, daß darin Negrische Körperchen nachgewiesen werden könnten), man diesen Körperchen noch nicht ohne weiteres ihren parasitären Charakter nehmen könnte.

In der Tat könnte man daran denken, daß diese Körperchen ein vom Parasiten auf Kosten des Gewebes erzeugtes Produkt darstellen und daß eventuell auch der Parasit darin stirbt.

Die betreffenden Versuche, die einer von uns²⁾ apart publiziert, lassen es logisch erscheinen, daran zu denken, daß der erste Teil dieser Hypothese wahr sein könnte, daß nämlich, wenn dem Negrischen Körperchen die Bedeutung eines Parasiten zukommt, dieses wahrscheinlich nur bezüglich einiger besonderen morphologisch deutlich nachweisbaren Teile des Körperchens gesagt werden kann und nicht bezüglich der ganzen nach Färbung mit Mannscher Methode rot erscheinenden Masse.

Diese Bemerkung erachten wir für erforderlich, da einerseits Schüder sich beeilt hat, ohne genügende Beweise den Negrischen Körperchen den Charakter von Parasiten zu nehmen und andererseits, allerdings mit mehr Vorsicht, auch Remlinger mit mäßig beweisenden Argumenten dazu hinneigt, die Protozoennatur des Wutparasiten auszuschließen und ihn unter die ultramikroskopischen Parasiten zu stellen (von denen wir dann, bezüglich des Platzes, der ihnen in der Systematik gebührt, nicht

1) Celli und Di-Blasi allein haben systematische Proben mit Straßenvirus vorgenommen, worüber sie aber nur Gesamtdaten liefern. Remlinger führte in den letzten Monaten nur eine Probe mit Straßenvirus aus.

2) Volpino l. c.

die geringste Idee haben). Wenn daher die parasitäre Natur der Negrischen Körperchen auch nicht definitiv festgestellt ist, so bilden doch auch die formellen Einsprüche Schüders und die reservierteren Bemerkungen Remlingers keinen wahren und beachtungswerten Einwand.

Zu den vorgebrachten Proben wurden ausschließlich Berkefeldsche Kerzen verwendet, die besonders präpariert und mit den Nummern 5, 6, 7, 8, 9, 10 klassifiziert worden waren. Die Nummer zeigt an, daß die Kerze unter Druck von 3 Atmosphären entsprechend 5, 6, 7, 8, 9, 10 l pro Minute abgibt. Die Numerierung wurde von dem Hause Berkefeld selbst gemacht.

Ohne zu besonderen Messungsmethoden zu greifen, wie z. B. zu denen Di-Vestees, werden so die Natur, die Porosität und die Permeabilität der verschiedenen benützten Kerzensorten genau bestimmt. Natürlich haben diese Kerzen einen höheren Wasserertrag als die gewöhnlichen Berkefeldschen im Handel (Marken V, N, W). In den einzelnen Fällen wurden die Kerzen mit Keimen probiert, die jedesmal in Erinnerung gebracht werden¹⁾.

Immer wurden neue Kerzen gebraucht; zu ihrer Applikation an die Gay-Lussacsche Pumpe wurde ein besonders hierfür erdachter metallener Schlauch verwandt.

Mit den Versuchen hatten wir, wie erwähnt, den doppelten Zweck im Auge: zu sehen, ob sich das Straßen- und Durchgangsvirus bei den Filtrationen durch die Berkefeld wie das fixe Virus verhielten, und ob es gelingt, vermittelst successiver Verdünnungen des Filtrerrückstandes nach einer ersten Filtration das Virus ganz durch den Filter hindurchzubringen.

Die Versuche wurden ihrer Natur und der dazu erforderlichen zahllosen Tiere wegen in ihrer Zahl beschränkt, genügen aber doch dazu, eine definitive Antwort zu geben auf die beiden Fragen, deren Erforschung wir uns vorgenommen hatten.

Filtration des Durchgangsvirus.

Encephalus eines 16 Tage nach dem Innest verstorbenen, dem städtischen Antiwutinstitut entstammenden Kaninchens. Nach feiner, gründlicher Zerreibung mit sterilem Sand verdünnt man es in 400 ccm physiologischer Lösung. Natürlich läßt man das Gemisch niederschlagen zur Separation des Sandes.

Am 5. Oktober 1903 wird es durch eine Berkefeld No. 5 bei 3 Atmosphären Druck filtriert. Bei diesem Drucke hält eine gleiche Kerze einen Pneumobacillus des Laboratoriums absolut zurück.

Das Filtrat ist klar, ohne Färbung und läßt keine aufgeschwemmten Teilchen erblicken. Mit 0,3 ccm werden nun zwei Kaninchen inokuliert, das wenige nicht filtrierte Liquid wird aufgenommen, die Kerze auf die Dicke von einigen Millimetern abgeschabt und zerstampft. Daraufhin

1) Diese besonderen Berkefeldschen Kerzen werden als Kerzen verkauft, die im stande sind, die Keime aufzuhalten, wenn sehr schwache Pressionen angewandt werden. Dem ist jedoch nicht so, denn auch bei Druck von weniger als einer Atmosphäre können verschiedene Keime (vor allem Microkokken und Bakterien kleinen Transversaldurchschnitts) passieren. Besser sind die Nummern 5—6, die verschiedene Male absolut steriles, filtriertes Wasser gaben. Für den uns vorgesetzten Zweck war es ohne Wichtigkeit, daß sie kleindiametrische Keime filtrierten, im Gegenteil für die Virus-Erschöpfungsversuche bildete diese diskrete Permeabilität der Kerzen eine gute Versuchsbedingung.

läßt man das gröbere sich ausscheidende Material niederschlagen und filtriert dann, nachdem man die Masse auf ein Volumen von 300 ccm gebracht hat, durch eine Berkefeld No. 6 mit Druck von 5—6 Atmosphären. Die verwandte Kerze läßt den *Pneumobacillus* nicht passieren. Die Flüssigkeit ist noch leicht opalin.

Die filtrierte Flüssigkeit (die wir Filtrat II nennen zum Unterschied von Filtrat I) wird zentrifugiert und 2 Kaninchen (0,3 subdural) injiziert. Außerdem werden 2 Kaninchen mit dem vor der Filtration in der Metallröhre befindlichen Flüssigkeit inokuliert. Eines der beiden Kaninchen starb in 20 Tagen an Wut, das andere nach 23 Tagen.

Das geringe nicht filtrierte Material und die abgeschabte Masse der Kerze bringt man nach feiner Zerknetung und vorheriger Entfernung des groben Materials auf 300 ccm; dann wird mit Kerze Berkefeld 6 bei 5 Atmosphären filtriert. Auch in diesem Falle werden vor Filtration 2 Kaninchen mit der Flüssigkeit inokuliert; das eine stirbt am 5. Tage mit nicht rabiden Meningeophänomenen, das andere bleibt am Leben.

Nach beendigter Filtration gießt man Wasser in den die Kerze umhüllenden Metallschlauch und filtriert bei 6 Atmosphären. Dieser Vorgang wird 8 mal wiederholt, die Kerze stets mit 6 Atmosphären ausgewaschen. Das letzte Filtrat (Schlußfiltrat) wird aufgenommen und zentrifugiert. Mit dem dem Boden der Zentrifuge aufliegenden Teil werden 2 Kaninchen inokuliert. Die Kerze wird an der Oberfläche geschabt. Die Schabmasse diluiert man mit physiologischer Lösung und injiziert damit 2 Kaninchen (das eine in den *Ischiadicus*, das andere unter die *Dura Mater*).

Die zwei mit Filtrat I inokulierten Kaninchen sterben beide an Wut, das eine 20, das andere 24 Tage nach dem Innest.

Das Filtrat II und das Schlußfiltrat sind inaktiv. Von den beiden mit Kerzenschabmasse inokulierten Kaninchen verendet eines an Wut nach 18 Tagen.

In den Präparaten mit Schabmasse der zweiten Kerze bemerkt man deutlich *Pneumobacillen*, die zur Probe der Permeabilität der Kerze diesen Keimen gegenüber verwendet worden waren.

Der Versuch führte also zu folgenden Konklusionen: Das Passagevirus (Kaninchen) geht leicht durch Kerze Berkefeld 5 (welches die dichteste der gebrauchten ist) bei Druck von 3 Atmosphären. Dagegen ist es nicht möglich, die ganze virulente Quantität der präparierten Masse (von der ein Teil unstreitig auch in der zuletzt angewandten Kerze bleibt) trotz bedeutender Quantitäten Waschflüssigkeit und trotz des starken Druckes durch neue, der Reihe nach gebrauchte Kerzen hindurchzubringen. Das mag nun wirklich sonderbar erscheinen, wenn man bedenkt, daß die zur letzten Filtration verwandte Flüssigkeit sich nicht rabid zeigte; doch läßt sich die Sache vielleicht aus der bedeutenden Verdünnung des Virus erklären und aus der geringen Anzahl von Kontrolltieren (2), von denen eines während des Versuchs starb.

Das erhaltene Ergebnis ersparte es uns, den Versuch zu erneuern, um zu sehen, ob in den beiden vorher gebrauchten Kerzen das Virus stecken geblieben sei. Denn zweifellos mußte es in ihnen geblieben sein, wenn man bedenkt, daß seine Präsenz selbst in der zuletzt verwandten Kerze trotz 8 wiederholter Waschungen nachgewiesen werden konnte. Außerdem gilt das Virus auch dann für zurückgehalten, wenn sich das filtrierte und zentrifugierte Material inaktiv erweist.

Filtration des Straßenvirus.

Die dazu erforderlichen Gehirne wurden uns vom städtischen Antiwut-institut geliefert. Vor Beginn der Filtrationsprobe fixierten wir ein Stück Ammonshorn in Osmiumsäure. Nach 18—24 Stunden führten wir mit der Hand die Schnitte aus und suchten unter Beobachtung der von Volpino gegebenen Anweisungen nach den Negrischen Körperchen. Selbstverständlich dienten nur die Fälle, bei denen positiver Befund von Negrischen Körperchen vorlag. In den wenigen Fällen stimmte die vom Städtischen Gesundheitsamt ausgeführte biologische Probe immer mit dem morphologischen Befund überein.

Betreffs der auf den Versuch sich beziehenden Daten beschränken wir uns auf das Nötigste, da im übrigen das bereits für das Durchgangsvirus Gesagte gilt.

I. Probe.

7. Oktober 1903. — Encephalus eines Hundes mit ungemein deutlichen Negrischen Körperchen. Der Hund erweist sich bei der biologischen Probe wutkrank.

Er wird in einem Mörser mit Sand zerstampft. Dann bringt man ihn mit physiologischer Lösung auf 400 ccm und läßt zwecks Entfernung des Sandes Sediment bilden. Das ausgeschiedene flüssige Material wird mikroskopisch untersucht, wobei man besonders bezüglich der Pyramiden und Purkinjeschen Zellen keine ganzen Elemente antrifft. Dagegen beobachtet man reichliche Myelintropfen und Protoplasmaanhäufungen. Die Aufsuchung der Negrischen Körperchen geschah ohne Koloration.

Man filtriert durch Kerze Berkefeld 6 (s. vorher betreffs der Permeabilität den Keimen gegenüber) bei 4 Atmosphären Druck. Das Filtrat I wird aufgenommen und damit Inokulation in 2 Kaninchen ausgeführt. In vorbesagter Weise filtriert man die Kerzenschabmasse und das zurückgebliebene Liquid, nachdem man die Masse nach vorhergegangener Sedimentierung auf 300 ccm gebracht hat, durch Kerze 5 und wäscht 12mal bei 6 Atmosphären durch. Vor der Filtration innestiert man 2 Kaninchen mit demselben Material (die Flüssigkeit ist kaum noch opalin), beide verenden an Wut. Daher kann kein Zweifel darüber obwalten, daß in dem Material das Virus in Fülle vorhanden ist.

Das erste und letzte Filtrat dieser Kerze wird aufgenommen, zentrifugiert und je eines in ein Kaninchen innestiert.

Zuletzt schabt man die Kerze ab und inokuliert (s. vorher) 2 Kaninchen (die verwandte Dilution ist sehr dick). In der Kerzenschabe werden nur Refraktionskörnchen ohne typisches Aussehen wahrgenommen. — Außerdem wird das letzte zwischen Filter und Metallschlauch gebliebene Wasser aufgenommen. Zwei damit innestierte Kaninchen bleiben am Leben.

Eines der beiden mit dem Filtrat der ersten Kerze inokulierten Kaninchen verendet 28 Tage nachher. (Kontrollpassage in das andere Kaninchen.) Das zweite bleibt am Leben. Von den 4 mit den übrig bleibenden Filtraten inokulierten Kaninchen verendet keines, und keines bietet Krankheitszeichen. Die 2 mit Kerze inokulierten sterben an Wut nach 18 resp. 26 Tagen.

II. Probe.

8. Jan. 1904. Encephalus eines Hundes: positiver Befund bezüglich der Negrischen Körperchen und darauffolgender positiver biologischer Befund. Man zerknetet und verdünnt wie bei Probe I, filtriert dann

zuerst durch einen stark porösen englischen Kohlenfilter und wäscht den Filter durch. Man nimmt hierauf im ganzen 500 ccm Filtrat auf. Dasselbe ist dem Kaninchen gegenüber aktiv: 2 Tropfen schon erzeugen in ihm die Wutkrankheit.

Man filtriert durch Berkefeld 10¹⁾ bei 3 Atmosphären Druck. Das erste Filtrat tötet ein Kaninchen und läßt 2 am Leben. Der Rückstand auf der Kerze und das Geschabe dieser (nach der Niederschlagsbildung) werden sodann durch Kerze 6 bei 5 Atmosphären filtriert. Vor Beginn der zweiten Filtration werden mit demselben Material 2 Kaninchen inokuliert: Beide sterben an Wut. Auch mit dem Geschabe wird ein Kaninchen injiziert, das ebenfalls an Wut verendet. Das Filtrat (Filtrat II) wird nun zentrifugiert und der dickste Teil 2 Kaninchen innestiert. Eines stirbt in 25 Tagen an Wut²⁾, das andere bleibt am Leben. Den Filtrerrückstand und das Geschabe filtriert man jetzt durch Kerze Berkefeld 6 bei 6 Atmosphären (in vorbeschriebener Weise verdünnend und dekantierend); vor der Filtration wird ein Teil dieses Materials 2 Kaninchen inokuliert, eines bleibt am Leben, eines stirbt an Wut. Dann wird 10 mal in die metallene Röhre Wasser gegossen und die Kerze jedesmal unter Pression durchgewaschen. Das erste und letzte Filtrat dieser zehn wird aufgenommen. Nach Inokulation mit dem ersten stirbt ein Kaninchen von zweien nach 40 Tagen an Wut; die Injektion mit dem letzten Filtrat überleben beide Kaninchen.

Man schabt sodann die Kerze ab und injiziert das Material 2 Kaninchen subdural und in den Ischiadicus. Eines stirbt an Wut nach 26 Tagen. In analoger Weise werden mit dem auf dem Filter gebliebenen Material (Waschwasser) 2 Kaninchen inokuliert und beide bleiben am Leben.

III. Probe.

12. Jan. 1904. — Encephalus eines wutkranken Hundes (positiver morphologischer und biologischer Befund). Behandlung wie bei Probe II.

Man filtriert durch Kerze 5. Das erste Filtrat tötet die 2 injizierten Kaninchen nicht. Man nimmt nun den Filtrerrückstand auf, verdünnt ihn zu 300 ccm und filtriert durch Kerze 10. Zuerst versucht man die Wirkung des filtrierenden Liquids: zwei subdural inokulierte Kaninchen sterben an Wut. Dieses 2. Filtrat wird aufgenommen und zentrifugiert. Von 3 damit inokulierten Kaninchen stirbt nur eines an Wut.

Man sammelt wie gewöhnlich das Rückstandsmaterial und filtriert durch Kerze 10 bei 6 Atmosphären, dann 10malige Durchwaschung. Die Filtrate sind inaktiv (4 Kaninchen innestiert). Das Kerzengeschabe läßt die beiden innestierten Tiere nicht an Wut verenden. Der Filtrerrückstand ist inaktiv, ebenso das zu dieser 3. Filtration verwandte Material nach Inokulation in 2 Kaninchen.

Der Filtrationsversuch mit Straßenvirus beweist also, daß das im Encephalus spontan wutkranker Hunde enthaltene Wutvirus durch Kerzen wie die von uns gebrauchte Berkefeld 5 filtrieren kann, die dem Pneumobacillus den Durchgang verwehrt und schwerlich nur Mikrokokken und feine Bacillenformen hindurch läßt.

1) Durch diese Kerze passiert der Pneumobacillus fast niemals; nur selten kommt es vor, daß der eine oder andere Bacillus sich in den Probekulturen vorfindet. Dagegen passieren die Bacillenformen kleinen Querdurchschnitts leicht.

2) Wir erinnern hierbei nochmals daran, daß bei allen Proben, bei denen die Diagnose unsicher sein konnte, zu diesem Zwecke subdurale Inokulationen in andere Kaninchen ausgeführt wurden. Die am Leben bleibenden Kaninchen wurden gewöhnlich 3 Monate in Beobachtung gehalten.

Wie alle Autoren, die sich mit dem Argumente beschäftigt, bemerkt haben, sieht man, daß die mit Filtrate inokulierten Tiere nur teilweise von der Wutkrankheit befallen werden, was man den Schwierigkeiten zuschreiben muß, die das Virus bei Passage durch die Kerzenporen vorfindet.

Zuweilen beobachtet man eine Verlängerung der Inkubationsperiode bei den mit filtriertem Virus inokulierten Kaninchen. Hierauf glaube ich besonders hinweisen zu müssen, denn es scheint gar nicht häufig zu sein, wenigstens nach den Befunden anderer Forscher zu urteilen, die sich mit diesem Argumente beschäftigen.

Diese Verlängerung der Inkubationsperiode scheint logischerweise einer numerischen Verminderung der die Wut erzeugenden Keime zugeschrieben werden zu können.

Niemals aber haben wir Fälle von Wutintoxikation beobachtet, wie solche Remlinger, Celli und De-Blasi und früher schon Babes vorgekommen sind.

Schließlich gelingt es auch bei wiederholter Waschung der Filtrierkerzen und energischer Pression nicht, den ganzen virulenten Teil der Wuthirnemulsionen zu filtrieren. In einem gegebenen Momente erhält man allerdings ein inaktives Filtrat, ohne Zweifel ist aber da in der Kerze noch eine gewisse Quantität Virus vorhanden. In einem einzigen Falle erwies sich die Kerze frei von Virus, doch war da das Material selbst inaktiv vor der Filtration.

Zu welchem Resultate führen nun diese auf die vermutliche Größe des Virus sich beziehenden Tatsachen? Betrachtet man vor allem die Versuche mit Straßenvirus, so bemerkt man, daß sich bei den aufeinanderfolgenden Filtrationen mit verschiedenen Kerzen untereinander etwas differierende Resultate ergaben. Die etwas dichtere Kerze 5, deren Poren sich unzweifelhaft $0,5 \mu$ nähern müssen (denn in gewissen Fällen können keine Kokken- und Bakterienformen passieren, ohne daß die Kerze Sprünge darböte), läßt nicht leicht eine aktive Flüssigkeit passieren, wenn die zur Filtration verwandte Virusemulsion bedeutend verdünnt ist. Wie aber die 1. Probe zeigt, geht das Virus auch durch diese Kerze, wenn es in der Filtrationsemulsion reichlich vertreten ist.

Bleibt das Virus nun des spezifischen Erzeugers wegen oder an den Wänden in der Kerze?

Analysieren und verfolgen wir aufmerksam die Daten der 3 Versuche, so können wir folgende Beobachtungen machen: Nach einer ersten Filtration bei natürlich konzentriertem Virus gelingt es einer gewissen Virusquantität, durchzukommen. Ein sehr bedeutender Teil desselben wird entweder durch Adhärenz an den Wänden der Poren oder tatsächlich durch das Volumen des spezifischen Erzeugers, der die Poren verschließen kann, aufgehalten. Das Rückstandsmaterial wird verdünnt und noch gefiltert. Selbstverständlich ist es viel schwieriger, daß ein infektautes Material passiert, sei es nun wegen der Verdünnung des Virus selbst oder infolge der spärlichen Quantität Material, die man dem Kaninchen subdural injizieren kann, denn mehr als 0,5 ccm erhält man auch bei langsamem Drucke auf die Flüssigkeit niemals.

Zuweilen ist das Filtrat sogar absolut inaktiv. Wenn man versucht (s. I. Probe), alles Virus aus der Kerze zu entfernen und dieselbe dazu bei bedeutendem Drucke mehrfach durchwäscht (s. I. Probe), so gelingt es doch nicht, aus der Kerze alles Virus zu extrahieren.

So schlecht gelingt es, dasselbe zu erschöpfen, daß, während die

filtrierte Flüssigkeit und der Rückstand unwirksam sind, die Kerze selbst virulent ist, und zwar in hohem Grade, wenn man bedenkt, wie stark sich das Virus in dem enormen Porennetze zerstreut und wie gering das den Kaninchen innestierte Kerzengeschabe quantitativ war.

Ist also das Virus in dieser Kerze tatsächlich zurückgehalten worden, weil es aus dicken Elementen besteht oder weil die Fülle der körnigen Massen und der proteischen Zellfragmente derart war, daß sie die Poren verstopften, oder aber weil das auch auf wenig beschränkte Material (unabhängig von der größeren oder kleineren Weite der Poren) durch Adhärenz an den Wänden haften blieb?

Es liegt auf der Hand, daß hierauf zu antworten eine sehr schwierige Sache ist.

Zieht man in Rücksicht, daß das auf den Filter gebrachte Liquid stark diluiert war, so daß es seine Virulenz verloren hatte, so müßte man wohl glauben, daß das Virus und die Nervensubstanzteilchen bei solch extremen Verdünnungen doch äußerst gering sein müßten. Eine direkte Probe aber, daß das Verbleiben des Virus im Filter nicht von einer groben Verstopfung der Poren abhängt, sondern mit dem Volumen des spezifischen Erzeugers in Verbindung steht, der unfähig ist, die Kerze zu passieren, fehlt bis heute absolut.

Wir können also zu dem Schlusse gelangen, daß Straßenvirus durch die von uns angewandten Berkefeld bei Druck von 3 und mehr Atmosphären passiert, daß aber der Versuch, das Virus zu erschöpfen, d. h. dahin zu gelangen, es vollständig durch den Filter zu bringen mit inaktivem Rückstand auf Filter und im Filter, soviel man auch die Pression und die Durchspülung vermehren mag, vollauf fehlschlägt.

Erlauben es die Filtrationsproben also auch nicht, zu behaupten, daß dieser spezifische Erreger Formen mit relativ bedeutendem Diameter hat, so verbieten sie doch auch zu folgern, daß das Wutvirus in seinem aktiven Teile ganz aus Material gebildet sei, das auch durch nicht übermäßig dichte Kerzen filtriert werden kann. Aus diesen Versuchen kann man also einwandsfrei ableiten, daß im Gegensatze zu dem, was andere Autoren behauptet haben, im Wutvirus Elemente sich vorfinden, die umfangreicher sind als die Poren dieser Kerzen (also nicht unter $0,5 \mu$) und imstande, die Wut zu übertragen.

Nachdruck verboten.

Neue Trematoden.

Von Dr. O. Fuhrmann.

Mit 4 Figuren.

Durch die Vermittelung von Herrn Prof. Zschokke in Basel erhielt ich einige Fläschchen mit Vogelparasiten, welche von Herrn Dr. Hagmann, Konservator am Göldi-Museum in Para gesammelt waren. Dabei befanden sich zwei Trematoden, welche neu sind und die in den folgenden Zeilen näher beschrieben werden sollen. Eine dritte neue Art erhielt ich durch Vermittelung des Naturhistorischen Museums in Genf; dieselbe ist von Dr. Zehntner in Java gesammelt.

Bothriogaster variolaris nov. gen. nov. spec.

Fig. 1 u. 2.

Dieser interessante Trematode bewohnt den Darm von *Rostrhamus sociabilis*, ein Südamerika bewohnender Falconide.

Es ist ein flacher, auf seiner ganzen Länge gleichmäßig breiter, hinten und vorn abgerundeter Wurm von 5 mm Länge und 1,2 mm Breite. Leider erhielt ich nur ein einziges Exemplar, das dazu noch jung ist und keine reifen Eier im Uterus zeigt.

Ich will sofort erwähnen, daß dieser Fasciolide auffallende Ähnlichkeit mit dem *Monostomum* (*Cyclocoelium*) *mutabile* Zeder und besonders mit *M. oculobium* Cohn zeigt, worauf ich am Schlusse zu sprechen kommen werde.

Die Körperhaut ist unbewaffnet; doch zeigen sich auf der ganzen Ventralseite, und nur auf dieser, gleichmäßig reihenförmig verteilte leichte ovale Depressionen, die wenig tief, ohne besondere Struktur, aber auf oberflächlichen Flächenschnitten sehr auffallend sind (Fig. 2).

Bei *Cyclocoelium mutabile* habe ich auf Horizontalschnitten, aber dorsal und ventral, ähnliche Vertiefungen gesehen, und fragt es sich, ob dieselben nicht vielleicht ein Produkt der Konservierung sind.

Die Muskulatur des Körpers ist nicht stark, aber deutlich differenziert in eine äußere Längs-, innere Ringmuskulatur und innerhalb dieser eine äußerst regelmäßig entwickelte Diagonalmuskulatur, deren Faserbündel ca. 0,04–0,048 mm voneinander entfernt sind.

Das Nervensystem ist bereits am Totalpräparat sehr leicht sichtbar. Es besteht aus einem dorsal vom Mundtrichter gelegenen dorsalen Gehirnganglion, von dem nach vorn 2 Paar Nerven, nach hinten ebenfalls 2 Paar Längsnerven ausgehen. Das erste Längsnervenpaar zieht ganz ventral, dem Hautmuskelschlauch direkt aufliegend, bis nach hinten. Es liegt außerhalb der Darmschenkel und zeigt ein dichtes Nest von Nerven, welches die beiden Hauptlängsnerven miteinander verbindet. Nach der Peripherie sieht man ebenfalls anastomosierende Nerven ausstrahlen. Das zweite Längsnervenpaar verläuft mehr dorsal und ist weniger lang, indem es nur bis in die Region des hinteren Hodens zu verfolgen ist, Es zeigt weniger Abzweigungen und liegt, von der Fläche gesehen, innerhalb und dorsal von den Darmschenkeln.

Das Exkretionssystem besteht aus einem dichten feinen Gefäßnetz, welches namentlich auf der Ventralseite deutlich sichtbar dem Nervenetz innen direkt aufliegt. Deutliche Hauptlängsgefäße habe ich keine unterscheiden können. Die Exkretionsblase ist birnförmig und mündet auf der Dorsalseite am Hinterende aus; sie ist von bläschenförmigen Zellen ausgekleidet und zeigt einen Durchmesser von 0,12 mm.

Das Darmsystem ist von bemerkenswertem Bau. Es ist kein oberflächlicher Mundsaugnapf vorhanden, die Mundöffnung ist ohne spezielle Muskulatur. Es führt ein enges, 0,26 mm langes Mundrohr zu einem pharynxartigen Gebilde (seine Länge 0,14 mm, Durchmesser 0,09 mm). Der dahinter liegende Oesophagus ist auffallend kurz und eng, der gegabelte Darm dagegen sehr weit und hinten sich vereinigend, bildet er einen Darmring. Dieser Darm zeigt, überall auch an der vorderen- und hinteren Vereinigungsstelle, einen Durchmesser von 0,1 mm und ist bemerkenswert durch die Größe der pentagonalen und hexagonalen scharf abgegrenzten Darmzellen, welche gleich einem Plattenepithel den Darm auskleiden. In der Tat haben die platten Zellen einen Durchmesser

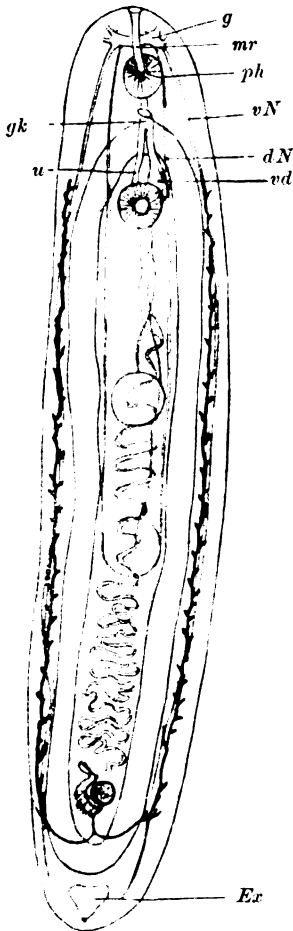


Fig. 1. *g* Gehirn, *vN* ventraler Längsnerv, *dN* dorsaler Längsnerv, *mr* Mundrohr, *ph* Pharynx, *gk* Genitalkloake, *u* Uterus, *vd* Endteil des Vas deferens, *Ex* Exkretionsblase.

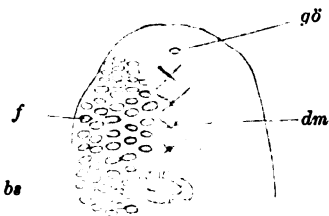


Fig. 2. Stück eines oberflächlichen ventral. Flächenschnittes. *gδ* Geschlechtsöffnung, *dm* Diagonalmuskulatur, *bs* Bauchsaugnapf, *f* ventrale Grübchen der Haut.

von 0,06 mm, so daß also 5—6 Zellen den ganzen weiten Darm zu umfassen vermögen. Die Zellmembran, die doppelt konturiert erscheint, färbt sich dunkelblau, der helle Kern hat einen Durchmesser von 0,008 mm.

Die männlichen Geschlechtsorgane bestehen aus zwei sphärischen Hoden, welche in der Mitte des Körpers hintereinander liegen. Sie zeigen einen Durchmesser von 0,28 mm und sind 0,57 mm voneinander entfernt. Die Samenleiter vereinigen sich kurz vor dem vorderen Hoden und das Vas deferens zieht gerade nach dem rudimentären Kopulationsorgan, das von keinem Cirrusbeutel umschlossen ist, sondern einfach durch den mit etwas stärkerer Wandung versehenen und vor der Ausmündung zu einer kleinen birnförmigen Vesicula seminalis erweiterten geraden Samenleiter repräsentiert wird. Mit ihm gemeinsam mündet der Uterinkanal aus, so daß eine gemeinsame kleine Genitalkloake besteht, durch deren Verschluß das Sperma einfach von den Hoden in den weiblichen Geschlechtsgang gelangen kann. Die gemeinsame Geschlechtsöffnung ist direkt hinter dem Pharynx gelegen, und zwar in einer Entfernung, die kaum 0,06 mm beträgt. Die Wandung des Endteils des Uteringanges ist deutlich verdickt. Anfangs ist der Uterus fast gerade bis in die Nähe des ersten Hodens, dann beginnen die Schlingungen, die hinter dem zweiten Hoden, obwohl der Uterus noch ganz leer, sehr zahlreich sind. So gelangt derselbe zum Keimstock und der Schalendrüse, welche ganz hinten vor der Vereinigung der Darmschenkel liegen. Das Ovarium zeigt einen Durchmesser von 0,34 mm, die Schalendrüse liegt ganz dorsal, der sie durchziehende Anfangsteil des Uteringanges ist weit und von einem Epithelium ausgekleidet. Es scheint ein sehr kurzer dorsal ausmündender Lauerscher Kanal zu bestehen. Die Dotterstöcke sind gebildet aus zwei in der Mitte des Parenchyms zwischen dem Darmschenkel und dem außerhalb verlaufenden Längsnerven liegenden Zellsträngen, die bis an das Vorderende des Darmes reichen. Bei dem jungen mir zur Verfügung stehenden Exemplar besteht er aus einer einfachen Reihe hintereinander gelegener Dotterzellen und zeigt nur ganz kleine kurze Abzweigungen. Am Hinterende überschreitet dieser Zellstrang beiderseits

die Darmschenkel und vereinigt sich zu einem unpaaren, nach vorn zur Schalendrüse verlaufenden Dottergang. Ob der Dotterstock auch bei ganz reifen Individuen auf diesem einfachen Zellstrangstadium verbleibt, kann ich leider nicht angeben. Wie schon oben bemerkt, besteht eine auffallende Aehnlichkeit dieser Art mit dem Monostomidengenus *Cyclocoeleum*. Wie bei *C. mutabile*, finden wir einen Darmring an Stelle der beiden Darmschenkel. Der Mundsaugnapf fehlt und ist nur ein Pharynx vorhanden. Die gegenseitige Lage von Hoden und Keimstock ist aber nicht dieselbe, dagegen zeigt das von Cohn¹⁾ beschriebene *Monostomum oculobium* Cohn nicht nur die oben genannten gemeinsamen Charaktere, sondern auch eine so vollkommen identische Disposition der Genitaldrüsen (Cohn, Fig. 1), daß man glauben könnte, Cohn habe den Bauchsaugnapf übersehen. Ferner zeigt sich auch hier das Fehlen des Cirrusbeutels und die gemeinsame Ausmündung des Vas deferens und des Uterus in eine allerdings wenig tiefe Genitalkloake. Bei *Monostomum mutabile* sind die Dotterstöcke stärker entwickelt und die Uterusschlingen weiter und am Hinterrande auch zahlreicher als bei unserer Art. Der Lauersche Kanal fehlt hier, während er bei *B. variolaris* vorhanden zu sein scheint (?). Ob diese Aehnlichkeit zwischen diesen Monostomiden und dem Fasciolidengenus *Bothriogaster* nur eine Konvergenzerscheinung ist oder aber ihren Grund hat in wirklichen verwandtschaftlichen Beziehungen, vermag ich nicht zu entscheiden.

Suchen wir nun in der großen und genusreichen Gruppe der Fascioliden unsere Form unterzubringen, so werden wir dieselbe wohl in die von Looss begründete Unterfamilie der *Syncoeliinae* einreihen müssen. In der Tat besitzt unsere Art folgende den *Syncoeliinae* gemeinsame und charakteristische Merkmale: Die Darmschenkel gehen im Hinterkörper kontinuierlich ineinander über; die Genitalöffnung ist dem Mundsaugnapf genähert; Leitungswege eine Strecke vor der Mündung mit einander sich vereinigend; Endteil des Vas deferens ohne Cirrusbeutel frei im Parenchym liegend; Hoden schräg hintereinander liegend, Keimstock hinter ihnen. Der letzte von Looss angegebene Charakter allein stimmt nicht überein, die Dotterstöcke liegen nicht hinter dem Keimstock konzentrisch. Alle bis jetzt bekannten Arten dieser Gruppe bewohnen Seefische, während *B. variolaris* aus einem Raubvogel stammt. Der obengenannten Unterfamilie gehören 3 Genera an, *Progonus* Looss, *Syncoelium* Looss und *Otiotrema* Setti. Von diesen Genre steht *Progonus* unserer Art am nächsten, namentlich auch in der äußeren Form.

In der Disposition der Dotterstöcke nähert sich unsere Form aber den meisten übrigen Fasciolidengenera und bildet so ein Bindeglied; andererseits haben wir gesehen, daß anatomisch sehr nahe Beziehungen zu gewissen Monostomiden bestehen.

Echinostomum armatum n. sp.

Fig. 3.

Diese Art stammt ebenfalls aus *Rostrhamus sociabilis* und ist deutlich verschieden von den bis jetzt aus Raubvögeln bekannten Arten. Es fanden sich im Darmsack obigen Vogels mehrere junge und einige vollständig geschlechtsreife Exemplare. Die Länge des erwachsenen Trema-

1) Cohn, Mitteilungen über Trematoden. (Zool. Anzeiger. Bd. XXV. 1902. No. 683/684.)

toden beträgt 14 mm, bei einer größten Breite von 0,8 mm, die sich auf der Höhe des Bauchsaugnapfes findet. Der Mundsaugnapf ist von einem deutlichen starken Kragen umrahmt, der in der Mitte der Ventralseite tief ausgeschnitten, aber nicht vollständig unterbrochen ist. Der Kragen ist von 50 starken massiven Haken bewaffnet, dieselben sind auf der Dorsalseite und seitlich einreihig angeordnet, ventral der Medianlinie genähert aber in doppelter Reihe. Jederseits der Mittellinie finden sich 2×3 , im ganzen also 12 Haken; die übrigen 38 bilden, wie gesagt, eine einfache Reihe. Alle sind von gleicher Größe 0,07 bis 0,088 mm lang und 0,02 mm dick.

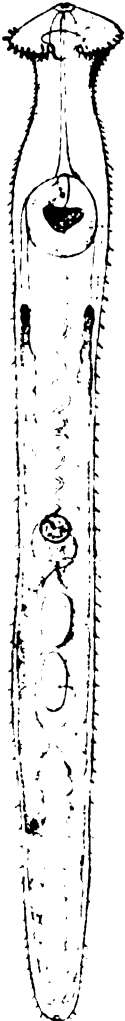


Fig. 3.

Außerdem ist aber auch der ganze übrige Körper bewaffnet, und zwar beginnt die Bestachelung in geringer Entfernung des großen cephalischen Hakenkranzes und besteht aus 0,02—0,03 mm langen Stacheln, die namentlich vorne regelmäßig angeordnet sind. Sie bilden hier schiefe Reihen, wie auf dem Rüssel eines *Echinorhynchus*. Die Distanz zwischen den Stacheln ist gleich ihrer Länge. Diese dichte Besetzung mit Dornen findet sich aber nur bis hinter die Geschlechtsöffnung und erstreckt sich noch etwas auf den Bauchsaugnapf. In der Nähe der Saugnapfmündung finden sich keine Stacheln. Von hier an sind die Dornen weiter voneinander entfernt und nimmt die Distanz nach hinten etwas zu (0,09 bis 0,11 mm). Auf der Ventralseite werden am Hinterende die Haken wieder dichter und zahlreicher.

Der Bauchsaugnapf ist äußerst mächtig entwickelt, mit einem Durchmesser von 0,7 mm und einer Tiefe von 1 mm, er ist deshalb stark vorspringend. An der Öffnung des Saugnapfes fällt ein starker Ringmuskelsbündel auf, der einen Sphinkter bildet.

Der Mundsaugnapf zeigt einen Durchmesser von 0,2 mm, während der direkt an ihn anschließende Pharynx einen solchen von 0,14 mm hat bei einer Länge von 0,2 mm. Es existiert aber hier kein Präpharynx wie z. B. bei *Ech. pendulum* Looss und *Ech. euryporum* Looss. Der Oesophagus reicht bis an den Bauchsaugnapf, wo die Gabelung des Darmes stattfindet; er ist 1,1 mm lang.

Das Wassergefäßsystem ist sehr stark entwickelt.

Die Geschlechtsorgane zeigen die für *Echinostomum* typische Disposition. Die Geschlechtsgänge münden hinter dem vorspringenden Bauchsaugnapf aus.

Wie es im Gegensatz zu den meisten kleinen Arten des Genus der Fall, ist bei *Ech. armatum* das männliche Kopulationsorgan gut entwickelt. Der durch den mächtigen Bauchsaugnapf eingekeilte Cirrusbeutel ist 0,5 mm lang, bei einem Durchmesser von 0,34 mm. Er ist stark muskulös wie auch das weite in ihm gelegene Vas deferens. Von den beiden ovalen Hoden liegt der erste etwa 5,2 mm hinter dem Bauchsaugnapf, gleich darauf folgt der zweite; ihr Längendurchmesser ist 0,8 mm, die Breite 0,5 mm. Die weiblichen Geschlechtsorgane münden hinter der männlichen Geschlechtsöffnung aus. Der Endteil des Uterus ist bis ziemlich weit hinter dem ventralen Haftorgan stark muskulös. Der

Uterus geht in zahlreichen Schlingen zur enorm entwickelten Schalendrüse, die in ihrer Gesamtmasse eine bedeutendere Größe besitzt als der Keimstock. Sie liegt direkt vor dem Hoden und ihr vorn direkt aufliegend, sogar etwas eingesenkt der Keimstock; derselbe besitzt deshalb einen sehr kurzen Ovidukt. Der Lauerse Kanal steigt direkt dorsal und mündet auf einer kleinen Papille aus. Im Uterusgang, der die Schalendrüse in zahlreichen Windungen durchzieht, sieht man zunächst dicht gedrängt reife Eier, deren Protoplasma verschmolzen zu sein scheint. Das kleine Dotterereservoir enthält Dotterzellen von pentagonaler Gestalt, erfüllt von Dotterkörnern, während der Zellkern klein und im Vergleich zu den Dotterzellen des Dotterstockes in Reduktion begriffen zu sein scheint. Im Uteringang werden nun die Eizellen mit Dottermaterial versorgt und von einer Schale umhüllt. Sie sind von zahlreichen 0,027 mm langen fadenförmigen Spermatozoen umgeben. Die beiden seitlichen Dotterstöcke beginnen in geringer Entfernung vom Bauchsaugnapf und reichen bis ans Hinterende. In der hinteren Körperhälfte bis zu den Hoden nimmt der Dotterstock die seitliche, dorsale und ventrale periphere Parenchymzone ein, während nach vorn nur noch die laterale und dorsale Seite von den Dotterfollikeln erfüllt und die Ventralfläche aber frei von ihnen bleibt. Die reifen Eier des Uterus sind 0,09 mm lang und messen 0,06 mm im Querdurchmesser.

Echinostomum inerme nov. spec.

Fig. 4.

Dieser neue aus einer unbekannten Art von *Lutra* stammende Trematode wurde von Dr. L. Zehntner in Salatiga (Java) gesammelt. Sie fanden sich im Magen des betreffenden Säugetieres. Diese Trematoden besitzen eine Länge von 14 mm bei einer größten Breite (auf der Höhe des Bauchsaugnapfes) von 1,1 mm. Der Mundsaugnapf ist von 26 Haken umgeben, die in einem auf der Ventralseite unterbrochenen Ringwulst stecken. Rechts und links der ventralen Medianlinie finden sich je 2×2 Haken in doppelter Reihe angeordnet, während die übrigen 18 Haken in einfacher Reihe disponiert sind. Die letzteren sind 0,14 mm lang, erstere dagegen nur 0,1 mm. Der ganze übrige Körper ist vollkommen unbewaffnet. Etwa 2 mm hinter dem vorderen Körperende liegt ein großer 1,1 mm im Durchmesser messender Bauchsaugnapf. Der Mundsaugnapf zeigt einen Durchmesser von 0,28 mm; die Länge des Pharynx ist nur wenig geringer; der Oesophagus ist 1,3 mm lang. Die engen Darmschenkel ziehen bis ans Hinterende.

Die Geschlechtsorgane münden etwas vor dem Bauchsaugnapf nach außen. Der Cirrusbeutel ist 0,9 mm lang bei einem Durchmesser von 0,4 mm, er enthält eine große *Vesicula seminalis*. Die Hoden zeigen eine besonders typische Form. Sie sind 1,7–1,9 mm lang und 0,4 mm breit und zeigen einen leicht gewundenen Verlauf. Die weiblichen Geschlechtsorgane, die infolge der Länge der Hoden weit nach vorn ver-



Fig. 4.

schohen, bestehen aus einem kugeligen Ovarium (Durchmesser 0,38 mm), dessen Ovidukt sofort in den 0,57 mm im Durchmesser messenden Schalendrüsenskomplex eindringt. Der Dotterstock ist erst hinter den Hoden wohlentwickelt, und zwar so, daß die Dotterfollikel der beiden Dotterstöcke nur die dorsale und seitliche Peripherie des Parenchyms erfüllen. Zu beiden Seiten der Hoden aber findet sich nur ein starker Dottergang, in den einzelne wenige Follikel sich ergießen. Das deutliche Dotterreservoir steckt im Schalendrüsenskomplex.

Der Uterus ist, da die weiblichen Geschlechtsdrüsen sich stets nahe dem Bauchsaugnapf finden, nur von geringer Länge, macht aber, in dem engen Raume zwischen Ovarium und Bauchsaugnapf, zahlreiche Schlingungen, um dann in geradem Verlauf zu der neben der Cirrusöffnung gelegenen weiblichen Geschlechtsöffnung zu gelangen. Die wenigen im Uterus vorhandenen ovalen Eier besitzen einen größten Durchmesser von 0,08 mm, einen Querdurchmesser von 0,05 mm. Von der von Diesing als *Echinostomum incrassatum* Dies. beschriebenen, aus *Lutra solitaria* stammenden Art, scheint unsere neue Form deutlich verschieden zu sein.

Nachdruck verboten.

Ueber die Fertilität und Sterilität der Echinokokken bei Rind, Schwein, Schaf und Pferd.

Von Georg Lichtenheld, Tierarzt in Leipzig.

Mit 2 Tafeln.

(Schluß.)

Histologischer Teil.

Die histologische Beschaffenheit der *Echinococcus*-Membran läßt bei den fertilen und sterilen Echinokokken keine wesentlichen Unterschiede erkennen. Die starke Membran der fertilen Echinokokken besteht aus einer größeren Anzahl von Lamellen, die außerdem noch eine bedeutendere Stärke erreichen, als diejenige der sterilen Echinokokken. Die lamellöse Schichtung ist bald mehr, bald weniger ausgeprägt. Besonders bei noch sehr jungen Blasen ist diese manchmal undeutlich. Ich beschränke mich also im folgenden Abschnitt auf die Untersuchung des histologischen Aufbaues der Bindegewebshülle und die Beziehung derselben zur Fertilität und Sterilität des *Echinococcus*.

Während über die Histologie des *Echinococcus alveolaris* eine reiche Literatur vorhanden ist, ist die des *Echinococcus cysticus* sehr spärlich. Da beide viele Berührungspunkte aufweisen, so bespreche ich auch jene, soweit sie für mich in Frage kommt.

Nachdem der *Echinococcus multilocularis* des Menschen von Zeller und Virchow als solcher erkannt und beschrieben worden war, bemühte man sich, die Identität desselben mit dem *Echinococcus cysticus* resp. die Spezifität beider nachzuweisen. Nach Angabe Posselts (29) haben sich dann mit dem histologischen Aufbau des Alveolarechinococcus des Menschen nachfolgende Autoren beschäftigt:

Morin, Meyer, Reiniger, Dematteis, Bernet, Schwarz, Osmarow, Jakob, Bruns, Zinn, Orth, Abbé und Tschmarke.

Posselt gibt weiter an, daß schon von Morin im Jahre 1876 Riesenzellen in der Wandung von Echinokokken gefunden seien. Die nachfolgenden Autoren bestätigten diesen Befund; nur Tschmarke (30) hält diese für Riesenzellen angesprochenen Gebilde für Querschnitte von Gallengangskapillaren. Posselt hält eine Verwechslung mit diesen für möglich, gibt aber an, auch Riesenzellen gefunden zu haben.

Mit der Histologie des multilokulären *Echinococcus* der Tiere haben sich beschäftigt:

Guillebeau (31), Ostertag (32), Ratz (33).

Nach Guillebeau führt der Druck, der durch die Ausdehnung des Parasiten hervorgerufen wird, in dem umgebenden Bindegewebe zum Absterben der anfänglich gebildeten Rundzellen und zur Entstehung von Riesenzellen, deren kernloser Pol an der Echinokokkenmembran liegt. Auf diese Schicht folgt eine Rundzellenzone, die von einer fibrösen Hülle umgeben ist.

Ueber die Histologie der Bindegewebshüllen des *Echinococcus cysticus* konnte ich in der Literatur nur wenig auffinden.

Birch-Hirschfeld (34) sagt von den Leberechinokokken, daß infolge ihres Wachstums das Parenchym des Organes atrophiert und daß Entzündungen in der Umgebung derselben auftreten können.

Ziegler (35) erwähnt nur, daß Entzündungen um die Echinokokken entstehen können.

Orth (36) bespricht auch nur die entzündlichen Prozesse um die Leberechinokokken.

Wechselmann (37) sagt, daß durch den Druck des *Echinococcus* auf das Leberparenchym dieses zu Grunde geht, während Bindegewebe, Blutgefäße und Gallengänge persistieren. Das Wachstum des Parasiten hat eine Zunahme der Bindegewebskapsel sowie der Blutgefäße und der Gallengänge zur Folge.

Kitt (38) schreibt über die Wandung des *Echinococcus cysticus* der Tiere: „Mit dem Wachstum der Blasenwürmer verdichtet sich auch die vom Organe geschaffene Bindegewebskapsel; sie wird zu einem Sack, der 5—10 mm dick und sehr derb ist, sich im Leberinterstitium zwischen verödetem, gepreßtem, blaß gewordenem Lebergewebe verliert, gegen die Wurmlase abgeglättet ist und ohne Verbindung mit derselben zu sein scheint“.

Ausführlichere Beobachtungen über die Histologie der Kapsel eines *Echinococcus cysticus* des Menschen liegen von Krückmann und Lehne vor. Beide beschreiben verschiedene *Echinococcus*-Blasen eines Individuums. Wegen ihrer Wichtigkeit für meine Arbeit werde ich die Ergebnisse ihrer Untersuchung ausführlich behandeln.

Krückmanns (39) Veröffentlichung lautet: „Bei der mikroskopischen Untersuchung des Rückenmarkes fanden sich nun teils in der Pia, teils in der Dura mater gelegene, sehr große vielkernige Riesenzellen, die vielfach in ihrer Mitte eine scheinbare Lücke oder helle durchsichtige Schollen erkennen ließen. Diese Riesenzellen lagen stets in Haufen zusammen, so daß sie geradezu kleine Knötchen bildeten, welche auch stets Kapillaren und kleine Arterien enthielten, deren Endothelbelag deutliche Wucherungsvorgänge darbot. Bei Untersuchung in Wasser oder verdünntem Glycerin ergab sich nun, daß die breiten Fetzen und Schollen, um die die Riesenzellen gruppiert waren, eine deutliche, parallele (konzentrische) Streifung besaßen. Es handelte sich zweifellos um Echinokokkenmembran, um die herum Riesenzellen-

bildung Platz ergriffen hatte. Auch in der direkt anschließenden Muskulatur konnten, wenn auch spärlichere Riesenzellen — meistens ohne Einschlüsse — aufgefunden werden“.

Dieser von Krückmann zitierte Fall wurde einer weiteren und ausführlicheren Untersuchung von Lehne unterworfen (40). Histologisch untersucht von dem betreffenden Falle wurden 4 Echinokokken aus verschiedenen Organen. Aus dem Befunde des zweiten *Echinococcus* führe ich folgendes an: „Diese Parteen gehören solchen an, die makroskopisch den Eindruck größerer Absceßhöhlen machten und in denen sich gelbliche, bröckliche Fetzen befanden, die sich bei der frischen Untersuchung teilweise als *Echinococcus*-Membranen erwiesen; daneben wurden auch vereinzelt Haken, aber keine Scolices gefunden. Die Wandung besteht aus einer basalen, ziemlich zellarmen Bindegewebsschicht, in welcher sich größere und kleinere Blutgefäße sowie mehr oder weniger reich eingestreute, blutpigmenthaltige Zellen befinden. Hierauf folgt eine aus sehr zellenreichem Granulationsgewebe bestehende Schicht, in der reichlich Leukocyten und hier und da auch große, vielkernige Riesenzellen vorhanden sind. Die innerste Schicht besteht fast ausschließlich aus größeren und kleineren Riesenzellen, zwischen denen auch epitheloide Zellen vorhanden sind und denen direkt die deutlich gestreifte Echinokokkenmembran anliegt. Die Riesenzellen zeichnen sich meist durch ihre besondere Größe und durch die große Anzahl der Kerne aus“.

Aus vorliegender Literatur geht also hervor, daß eine ausführliche Beschreibung der histologischen Beschaffenheit der Cyste von *Echinococcus cysticus* nur über einen Fall und zwar beim Menschen besteht (hierbei wurden auch Riesenzellen gefunden).

Ich hielt infolgedessen eine weitgehende Untersuchung der Bindegewebshüllen der Echinokokken für nötig und achtete hierbei vor allem auf ihr Verhalten bei fertilen und sterilen Echinokokken.

Es wurden von mir histologisch folgende Echinokokken bez. der Beschaffenheit der Bindegewebscyste untersucht:

a) Von Rindern 18 sterile Lungenechinokokken von 15 Tieren und 3 sterile Leberechinokokken von 3 Tieren; 5 fertile Lungenechinokokken von 5 Tieren und 2 fertile Leberechinokokken von 2 Tieren;

b) von Schweinen 14 fertile Leberechinokokken von 14 Tieren, 5 sterile Leberechinokokken von 5 Tieren; 1 steriler Nieren-*Echinococcus*, 1 steriler *Echinococcus* des subperitonealen Bindegewebes;

c) von Schafen 14 fertile Lungenechinokokken von 12 Tieren, 8 fertile Leberechinokokken von 8 Tieren und 3 sterile Leberechinokokken von 2 Tieren;

d) bei Pferden 10 fertile Leberechinokokken und 1 fertilen Lungen-*Echinococcus* von 7 Tieren, 14 sterile Leberechinokokken von 11 Tieren.

Außerdem wurden erbsen- bis walnußgroße Echinokokken aus der Leber des Schweines 27, aus der Leber des Rindes 13 und aus der Lunge desselben 4 histologisch untersucht.

Die Cystenwandungen wurden teils in 10-proz. Formalin, teils in konzentrierter Sublimatlösung fixiert. Um starke Schrumpfung zu vermeiden, legte ich Echinokokken eine Zeit lang vor ihrer Eröffnung in die Fixierungsflüssigkeit. Nach ihrer Eröffnung verblieben sie 3 Tage in Formalin und 4 Stunden in der Sublimatlösung.

Darauf wurden ein oder mehrere Stücke von denselben in Alkohol und Xylol übergeführt und in Paraffin eingebettet. Die Präparate wurden

in 10 μ dicke Schnitte zerlegt. Diese wurden in Hämalaun-Orange in 2-proz. Alaunlösung oder in Hämalaunpikromagnesiakarmin gefärbt. Beide Färbungen ergaben gute Resultate.

Die Bindegewebscyste der fertilen Echinokokken von Rind, Schwein, Schaf und Pferd (s. Fig. 3).

Der histologische Aufbau der Bindegewebscyste ist bei fast allen fertilen Echinokokken ein gleicher. Nur solche Echinokokken, die sich makroskopisch durch eine sehr geringe Fertilität auszeichneten, besaßen eine etwas abweichend gebaute Cystenwandung. Jenen Aufbau bezeichne ich als typisch für fertile Echinokokken, den der übrigen als atypisch.

Der Aufbau der Cystenwandungen der fertilen Echinokokken zeigte bei den verschiedenen Tierarten nur geringe, in den verschiedenen Organen derselben Tierart keine Abweichungen. Bei den nachfolgenden Ausführungen bezeichne ich als innere Wand der Cyste die der Echinokokkenmembran, als äußere die dem Organ anliegende Fläche.

Die Cyste des fertilen Echinococcus besteht aus fibrillärem Bindegewebe; ihre innere Zone ist stets zellenlos, nach außen lagern sich dann Zellen mit spindelförmigem Kern erst seltener, dann häufiger zwischen den Fibrillen. Mit Zunahme der Zellenanzahl werden die Kerne kürzer und dicker. Die äußerste Zone ist sehr zellenreich. In ihr befinden sich zahlreiche Blutgefäße und bei Echinokokken der Leber auch Gallengänge. Die Wandungen beider sind meist verdickt. Außerdem können sich atrophische Teile vom Parenchym des umgebenden Organes eingeschlossen vorfinden. Bei jüngeren Echinokokken ist die innere, zellenlose Zone gering, die äußere relativ stark; bei älteren ist das Verhältnis umgekehrt.

Bei den atypisch gebauten Bindegewebscysten der fertilen Echinokokken findet man an der inneren Fläche zellenloses, fibrilläres Bindegewebe, das jedoch von nur geringer und sehr wechselnder Stärke ist, abwechselnd mit zellhaltigem Bindegewebe. Daran schließt sich zellhaltiges, fibrilläres Bindegewebe, dessen Struktur und Zellenreichtum in der ganzen Cyste ziemlich gleichmäßig sind. Es können aber auch Züge fibrillären Gewebes mit wenigen, spindelförmigen Zellen und solche mit zahlreichen, mehr runden Zellen abwechseln. In beiden findet man junge Bindegewebszellen mit runden, vollen Kernen ohne fibrilläre Zwischensubstanz eingelagert. Eben solche Zellen bilden manchmal die äußere Zone der Cyste und setzen sich in das interstitielle Bindegewebe des Organes fort. In dieser, sowie in den angrenzenden Schichten des fibrillären Bindegewebes findet man Blutgefäße und bei den Leberechinokokken auch Gallengänge. Je nachdem die innere Schicht der Cystenwand mehr aus zellenlosem oder aus zellhaltigem Bindegewebe besteht, wird sie entweder mit derjenigen des fertilen oder mit derjenigen des noch zu besprechenden sterilen Echinococcus Ähnlichkeit haben.

Die Bindegewebscyste der sterilen Echinokokken von Rind, Schwein und Schaf.

Die sterilen Echinokokken von Rind, Schwein und Schaf besitzen eine gleichartig gebaute Bindegewebscyste. Ich werde sie im folgenden auch zusammen besprechen. Die Bindegeweshülle der sterilen Pferdechinokokken werde ich wegen ihrer abweichenden Ausbildung gesondert behandeln.

Der Aufbau der Bindegewebscysten der sterilen Echinokokken der drei Tierarten ist, unabhängig von der Tierart, sehr verschieden. Alle Cysten zeichnen sich durch eine innere zellenreiche und eine äußere zellenarme Zone aus. Unterscheidend für die Einteilung der sterilen Echinokokken ist die Beschaffenheit der inneren zellenreichen Zone.

Hiernach teile ich die sterilen Echinokokken ein in solche mit und ohne Riesenzellen. Da die Riesenzellen bei den meisten sterilen Echinokokken vorkommen, bei den fertilen nie, so bezeichne ich die Cystenwandungen mit Riesenzellen als typisch, die Wandungen ohne diese als atypisch für den sterilen *Echinococcus*.

Die ersteren (s. Fig. 4) weisen drei mehr oder weniger deutlich hervortretende Schichten auf. Die innere besteht aus Riesenzellen und sternförmigen oder spindelförmigen Bindegewebszellen mit ovalen Kernen. Bei den verschiedenen Echinokokken und an verschiedenen Stellen desselben *Echinococcus* wechselt das Verhältnis der Riesen- und Bindegewebszellen. Bald sind die einen, bald die anderen in hervorragendem Grade an dem Aufbau beteiligt, oft findet man auch nur Riesenzellen vor. Diese sind nach außen abgerundet, während sie nach innen kelchförmig auslaufen. Jener Teil ist von seiner Umgebung deutlich abgegrenzt, dieser verschmilzt allmählich mit dem Plasma der benachbarten Riesen- oder Spindelzellen. Die Kerne liegen fast stets am äußeren Pol entweder in einer Reihe, der Peripherie entlang, oder knäueelförmig zusammengedrängt. Sehr selten konnte ich einige Kerne an dem inneren Pol beobachten. Diese waren dann stets undeutlich und zeichneten sich gegenüber den anderen durch ihre geringe Färbbarkeit aus.

Hierauf folgt die mittlere, aus runden Zellen bestehende Schicht. Diese sind junge Bindegewebszellen mit runden, vollen Kernen. Die fibrilläre Substanz zwischen diesen Zellen ist nur mangelhaft ausgebildet. In der Rundzellenschicht kann fibrilläres Bindegewebe mit spindelförmigen Kernen eingelagert sein. Außerdem habe ich in ihr auch Riesenzellen vorgefunden. Diese unterscheiden sich von denen der inneren Schicht durch ihre runde Gestalt und ihre gleichmäßige Kernverteilung.

An diese Rundzellenschicht schließt sich nach außen mehr oder weniger zellenreiches, aber nie zellenloses, fibrilläres Bindegewebe an. Der Uebergang zwischen beiden erfolgt allmählich, die äußerste Zone des Bindegewebes ist am zellenärmsten. Der Verlauf der Fibrillen ist sehr verschieden, er kann sowohl parallel als auch regellos sein. Auch die Stärke dieser drei Schichten ist verschieden. Bei jungen Echinokokken wird die Cyste größtenteils aus der inneren und mittleren, bei alten aus der äußeren Schicht gebildet.

Abgesehen von diesen Unterschieden der drei Schichten bei den verschiedenen Altersstufen findet man auch noch Abweichungen von dem eben beschriebenen Typus, indem die Dicke und Struktur der drei Schichten bei den Echinokokken gleichen Alters und vor allem auch an den verschiedenen Stellen desselben *Echinococcus* Schwankungen unterliegt. Eine Schicht kann stellenweise fehlen, während die andere sich durch größere Stärke auszeichnet.

Die atypisch gebauten Cysten (s. Fig. 5) der sterilen Echinokokken können die oben beschriebenen drei Schichten besitzen mit der Ausnahme, daß in der inneren die Riesenzellen fehlen. Diese Ausbildung konnte ich nur einmal bei einem *Echinococcus* der Niere beobachten. Oefters verschmelzen die innere und mittlere Schicht mit-

einander, so daß man dann nur zwei Schichten, eine innere, aus Rund- und Spindelzellen und eine äußere, aus fibrillärem, zellenhaltigem Bindegewebe bestehende Schicht vorfindet. Diese ist meist bedeutend stärker als jene. Die meisten der atypisch gebauten Cysten lassen nur eine einheitliche Schicht aus fibrillärem Bindegewebe erkennen, deren innere Zone zellenreich, deren äußere zellenarm ist.

Blutgefäße, Gallengänge und Parenchym des umgebenden Organes findet man bei den sterilen Echinokokken selten in der Cystenwand enthalten.

Die sterilen Echinokokken der Pferde.

Die Cyste der sterilen Echinokokken der Pferde besteht aus Bindegewebe, das nur eine undeutliche, fibrilläre Struktur zeigt. Die Zellen liegen fast alle regellos durcheinander, nur selten fand ich sie parallel angeordnet. Ihre Kerne waren meist länglich. Sie färbten sich mit Hämalaun nur schwach. In der äußeren Zone befanden sich Blutgefäße und Gallengänge. Außerdem fand ich hier einige wenige junge Bindegewebszellen vor, während der Bau des ganzen übrigen Bindegewebes vollständig gleichartig war.

Die Membran der sterilen Echinokokken des Pferdes stellt ein sehr dünnes, nicht geschichtetes Häutchen dar. Die Membran der fertilen Echinokokken gleicht denen der anderen Tierarten vollständig.

Die Cystenwandung der Echinokokken von unter Walnußgröße.

Die histologische Untersuchung der Cysten von kleinsten bis wallnußgroßen Echinokokken wurde von mir vorgenommen, um festzustellen, wie es zu der verschiedenen Ausbildung der Cysten der fertilen und sterilen Echinokokken kommt. Bei dieser Beschreibung halte ich es für angebracht, die Cysten der jüngeren und die der älteren Echinokokken getrennt zu behandeln.

Bei ersteren konnte ich zwei von einander abweichende Ausbildungen finden. Bei der einen sind 3 Schichten nachzuweisen, eine innere aus Spindelzellen, eine mittlere aus jungen Bindegewebszellen mit runden Kernen und eine äußere aus fibrillärem Bindegewebe bestehende. Von der inneren Schicht ist hervorzuheben, daß die Spindelzellen in ihrer Längsrichtung ungefähr senkrecht zu der Echinococcus-Membran verlaufen. Die äußere Schicht ist sehr gering.

Die anderen Cysten bestehen aus meist parallel verlaufendem Bindegewebe mit ovalen Kernen. Zwischen diesen finden sich Rundzellen eingelagert. An diesem Bindegewebe liegt nach innen eine verschieden starke Detritusmasse, die aus zu Grunde gegangenen Bindegewebs- und Blutzellen besteht.

Bei den Cysten der älteren Echinokokken sind die beiden Arten der Ausbildung ebenfalls vorhanden, nur ist bei diesen das vorhandene Bindegewebe stärker ausgebildet. Die Zellen desselben haben langgestreckte, spindelförmige Kerne. Die fibrilläre Zwischensubstanz ist reichlich vorhanden.

Die übrigen Cysten der größeren Echinokokken gleichen entweder denen der fertilen oder sterilen Echinokokken. Jene bestehen aus fibrillärem, innen zellenlosem, außen zellenhaltigem Bindegewebe von geringer Dicke. Die äußere Zone besitzt öfters junge Bindegewebszellen

mit runden Kernen. Die anderen Cysten lassen deutlich 3 Schichten erkennen, eine innere, aus Spindel- und Riesenzellen, eine mittlere, aus Rundzellen und eine äußere, aus fibrillärem, zellenhaltigem Bindegewebe bestehende Schicht. Diese Riesenzellen unterscheiden sich von denen der sterilen Echinokokken durch ihre geringe Größe und durch das Fehlen großer, kernloser Plasmamassen.

Zusammenfassende Bemerkungen über die histologischen Untersuchungen.

Aus den histologischen Befunden geht hervor, daß die Bindegewebshülle der Echinokokken aus einer reaktiven Entzündung des betreffenden Organes mit nachfolgender Bindegewebsbildung entsteht. Bei den sterilen Echinokokken behält die innere Schicht ihren zellenreichen Charakter. In demselben Grade, wie eine Umwandlung der äußeren Teile derselben in fibrilläres Bindegewebe erfolgt, findet in ihren inneren Teilen eine Neubildung zelliger Elemente statt. Diese Prozesse erfolgen nur sehr langsam. Das Dickenwachstum der Cyste ist infolgedessen ein sehr geringes.

Bei den fertilen Echinokokken werden die inneren Schichten in fibrilläres Gewebe umgewandelt, in den äußeren, sowie in dem angrenzenden interstitiellen Gewebe des Organes erfolgt eine Neubildung zelliger Elemente mit nachfolgender Umwandlung ihrer inneren Schichten in fibrilläres Bindegewebe.

Die Ursache für dieses Verhalten ist nach meiner Ansicht der verschieden starke Reiz, den der fertile und sterile Echinococcus auf das umgebende Gewebe ausübt. Bei dem sterilen Echinococcus ist er so schwach, daß er sich nur auf die innere Schicht der Cyste beschränkt, die dann durch Neubildung von Bindegewebe oder Bildung von Riesenzellen auf diesen reagieren. Der fertile Echinococcus verhindert durch seinen intensiven Reiz die Zellvermehrung in seiner nächsten Umgebung und ruft solche in den entfernteren äußeren Schichten und dem interstitiellen Gewebe des Organes hervor.

Von den jugendlichen, nicht ausgebildeten Echinokokken sehe ich solche, die zur Nekrose der umgebenden, zarten Zellen und zur Entwicklung einer starken Bindegewebshülle geführt haben, als Vorstufe der fertilen, die übrigen als Vorstufe der sterilen Echinokokken an.

Schlußbetrachtung.

Die Ergebnisse meiner Untersuchung fasse ich in folgende Sätze zusammen:

Die Lokalisation der Echinokokken ist bei Rind, Schwein, Schaf und Pferd sehr verschieden. An den mit Echinokokken behafteten Organen sind beteiligt bei

	Rindern	Schweinen		Schafen	Pferden
		männlichen	weiblichen		
Lungen	mit 69,3 %	16,2 %	21,4 %	52,2 %	5,5 %
Lebern	„ 27,0 „	74,2 „	72,0 „	44,9 „	94,5 „
Milzen	„ 2,2 „	3,2 „	2,7 „	2,9 „	—
Herzen	„ 0,75 „	3,2 „	1,3 „	—	—
Nieren	„ 0,75 „	3,2 „	1,3 „	—	—
das subperitoneale Gewebe	„ —	—	1,3 „	—	—

Bei Schweinen ist das Alter des Tieres zur Zeit der Infektion auf die Lokalisation von Einfluß. Bei Tieren unter 2 Jahren war das Verhältnis der mit Echinokokken befallenen Lungen und Lebern wie 12,8:82, bei Tieren über 2 Jahre wie 39,3:46,4.

Die fertilen Echinokokken der genannten Tierarten unterscheiden sich makroskopisch von den sterilen sowohl in ihrer äußeren Form als auch in der Dicke und Beschaffenheit der Echinokokkenmembran und der Bindegewebscyste.

Das Verhältnis der fertilen Echinokokken zu den sterilen ist bei den verschiedenen Tieren sehr verschieden. Es beträgt bei Rindern 24:76, bei Schweinen 80:20, bei Schafen 92,5:7,5 und bei Pferden 38,9:61,1.

Bei Rindern und Schweinen ist die Prozentzahl der fertilen Echinokokken in Lunge und Leber verschieden. Sie beträgt bei Rindern für Echinokokken in der Lunge 21,5, in der Leber 13,5; bei Schweinen in der Lunge 37,5, in der Leber 76.

Bei Schweinen konnte ich einen Einfluß des Alters des Tieres auf die Fertilität konstatieren insofern, als bei Schweinen über 2 Jahre 50 Proz. der Echinokokken fertil, bei solchen unter 2 Jahren 87 Proz. aller Echinokokken fertil waren.

Keinen Einfluß auf die Fertilität kann ich dem Geschlecht, Nährzustand und Krankheiten der Tiere zuschreiben.

Die Membranen der Echinokokken der vier Tierarten mit Ausnahme derjenigen der sterilen Echinokokken der Pferde zeigen, abgesehen von der Dicke und der Zahl der Lamellen, keine Verschiedenheiten. Die Membran des sterilen *Echinococcus* des Pferdes stellt ein nicht lamelloses Häutchen dar.

Die Bindegewebshüllen der fertilen und sterilen Echinokokken sind, unabhängig von der Tierart, verschieden aufgebaut. Jene bestehen aus einem innen zellenlosen, außen zellenreichen fibrillären Bindegewebe; diese, mit Ausnahme der Echinokokken des Pferdes, setzen sich aus einem inneren, zellenreichen und einem äußeren, zellenhaltigen Bindegewebe zusammen.

Die Cystenwandungen der sterilen Echinokokken der Pferde bestehen aus zellenhaltigem, fibrillärem Bindegewebe, das gleichmäßig entwickelt ist.

Die Cystenwandungen der fertilen Echinokokken besitzen keine Riesenzellen. Die meisten der sterilen Echinokokken von Rind, Schwein und Schaf besitzen solche in ihren inneren Schichten.

Literatur.

- 1) Helm, Ueber die Produktivität und Sterilität der Echinococcusblasen. (Virchows Archiv. Bd. LXXIX. 1880. p. 141.)
- 2) Mejer, Statistische Beiträge zu dem Vorkommen tierischer Parasiten bei den Schlachttieren. (Zeitschr. für Fleisch- und Milchhygiene. Bd. II. p. 125.)
- 3) Olt, Zur Frage der Verbreitung der Echinokokkenkrankheit unter den Haustieren. (Zeitschr. für Fleisch- und Milchhygiene. Bd. IV. p. 13.)
- 4) Metelmann, Statistik. (Handbuch der Fleischbeschau von Ostertag. 3. Aufl. p. 512.)
- 5) Sahlmann, Statistik. (Handbuch der Fleischbeschau von Ostertag. 3. Aufl. p. 512.)
- 6) Streuding, Zum Vorkommen der Echinokokken bei unseren Haustieren. (Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene. Bd. IV. p. 129.)
- 7) Prettner, Cysticercus cellulosae und Echinococcus nach der Häufigkeit und Form seines Befundes im Prager Schlachthause. (Zeitschr. für Fleisch- und Milchhygiene. Bd. VII. p. 27.)
- 8) Längrich, Statistik. (Handbuch der Fleischbeschau von Ostertag. 3. Aufl. p. 512.)

- 9) Gurin, Echinokokkenkrankheit bei den Tieren. (Zeitschr. für Fleisch- und Milchhygiene. Bd. XI. p. 7.)
- 10) Ostertag, Handbuch der Fleischbeschau. 3. Aufl. p. 512.
- 11) Schneidemühl, Die animalischen Nahrungsmittel.
- 12) Raimond, The Echinococcus veterinorum in a horse. (The vet. Journal. Vol. XVI, p. 178.)
- 13) Railliet, Echinococcus dans le poumon du cheval. (Recueil. p. 39, referiert in Ellenberger & Schütz, Jahresberichte. Jahrg. 1887.)
- 14) Morot, Echinococcus chez un jument. (Recueil p. 214, referiert in Ellenberger & Schütz, Jahresberichte. Jahrg. 1887.)
- 15) Eassee, Echinococcus cysticus in liver and lungs of a horse. (The vet. Journal. Vol. XXIX. p. 325.)
- 16) Pauli, Echinokokken bis Taubeneigröße in den Muskeln eines Schweines und bis Faustgröße bei einem Pferde. (Preuß. Mitt. Bd. IV. p. 66.)
- 17) Hengst, Echinococcus in der Schädelhöhle eines Pferdes. (Berl. tierärztl. Wochenschrift. Jahrg. 1891. p. 53.)
- 18) Gutzlaff, Echinococcus im Gehirn eines Pferdes. (Berl. tierärztl. Wochenschrift. Jahrg. 1894. p. 555.)
- 19) Morot, Echinococci bei einem Pferde und 3 Eseln. (Recueil. p. 94, referiert in Zeitschrift für Fleisch- und Milchhygiene. Bd. VII. p. 103.)
- 20) Mettam, Echinokokken beim Pferde. (Zeitschr. für Fleisch- und Milchhygiene. Bd. XI. p. 222.)
- 21) Wulf, Echinokokken im Oberschenkel eines Rindes bei Freisein aller anderen Organe. (Preuß. Mitt. Jahrg. VII. p. 64.)
- 22) Benedictis, Echinococcusblasen auf dem Brustfell eines Ochsens. (Nuovo Ercolani. 1896. p. 106, referiert in Ellenberger & Schütz, Jahresberichte. Jahrg. 1897.)
- 23) Rehnet, Echinococcus polymorphus im Euter einer Kuh. (Berl. tierärztl. Wochenschrift. Jahrg. 1893. p. 490.)
- 24) Knoll, Hirnbefund bei einer Kuh. (Berl. tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 1900. p. 339.)
- 25) de Angelis, Echinococcusblase im Gehirn eines Rindes. (Nuovo Ercolani. 1902. referiert in Deutsch. tierärztl. Wochenschr. 1903. p. 62.)
- 26) Benedictis, Echinokokken in der Muskulatur des Schweines. (Berl. tierärztl. Wochenschr. Jahrg. 1897.)
- 27) Leuckart, Die Parasiten des Menschen. 2. Aufl. 1879—86. p. 773.
- 28) Küchenmeister, Die Parasiten des Menschen.
- 29) Posselt, Zur pathologischen Anatomie des Alveolarechinococcus. (Zeitschr. für Heilkunde. Bd. XXI. II. 1. 1900. Innere Medizin.)
- 30) Tschmarke, Beitrag zur Histologie des Echinococcus multilocularis. [Inaugural-Dissertation.] Freiburg 1891.
- 31) Guillebeau, Zur Histologie des multiloculären Echinococcus. (Virchows Archiv. Bd. OXIX. p. 108.)
- 32) Ostertag, Ueber Echinococcus multilocularis bei Rindern und Schweinen. (Zeitschrift für Tiermedizin. Bd. XVII. p. 172.)
- 33) Ratz, a. unter No. 29.
- 34) Birch-Hirschfeld, Lehrbuch der pathol. Anatomie. p. 623.
- 35) Ziegler, Lehrbuch der pathol. Anatomie. 5. Aufl. Bd. II. p. 605.
- 36) Orth, Lehrbuch der pathol. Anatomie. Bd. I. p. 778.
- 37) Wechselmann, Beiträge mecklenburgischer Aerzte zur Lehre der Echinokokkenkrankheit.
- 38) Kitt, Lehrbuch der pathol. Anatomie. p. 575.
- 39) Krückmann, Ueber Fremdkörperuberkulose und Fremdkörperriesenzellen. (Virchows Archiv. Bd. CXXXVIII. p. 118.)
- 40) Lehne, Ueber seltene Lokalisation des uniloculären Echinococcus beim Menschen nebst Bemerkungen über die durch den Echinococcus hervorgerufenen histologischen Veränderungen. (Archiv für klin. Chirurgie. Bd. LII. p. 534.)

Erklärung der Figuren.

Figur 1. Fertiler Lungenechinococcus vom Rinde.

a) Echinokokkenmembran mit Brutkapseln (B).

b) Bindegewebscyste.

c) Lungengewebe.

d) Von der Bindegewebscyste in das interstitielle Lungengewebe ausgehender Trabekel.

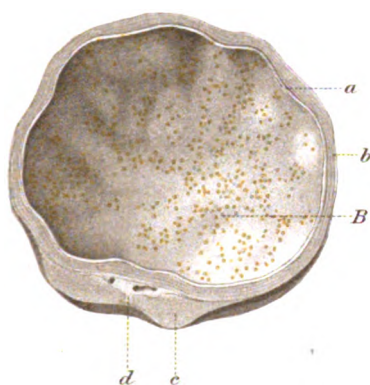


Fig. 1.

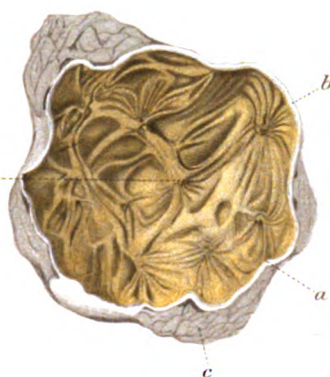


Fig. 2.

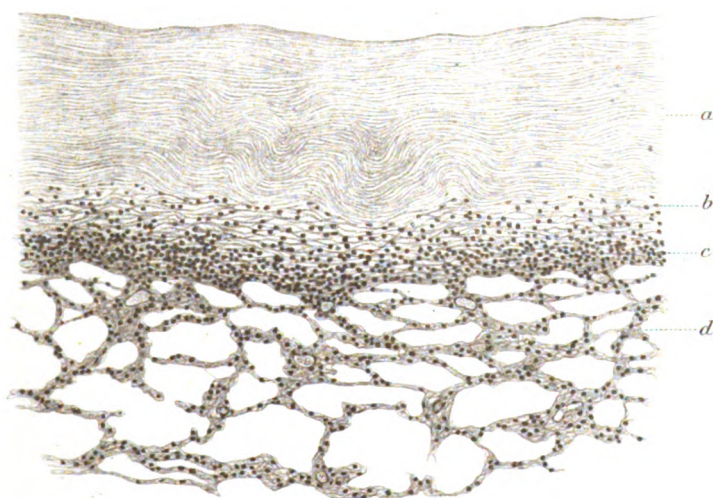


Fig. 3.

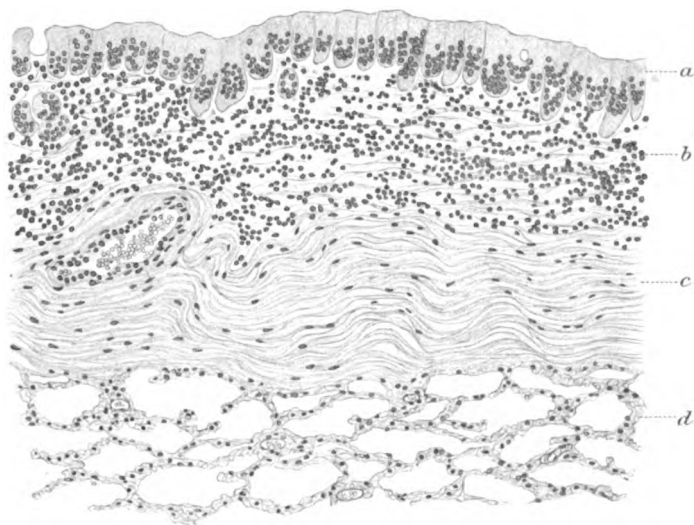


Fig. 4.

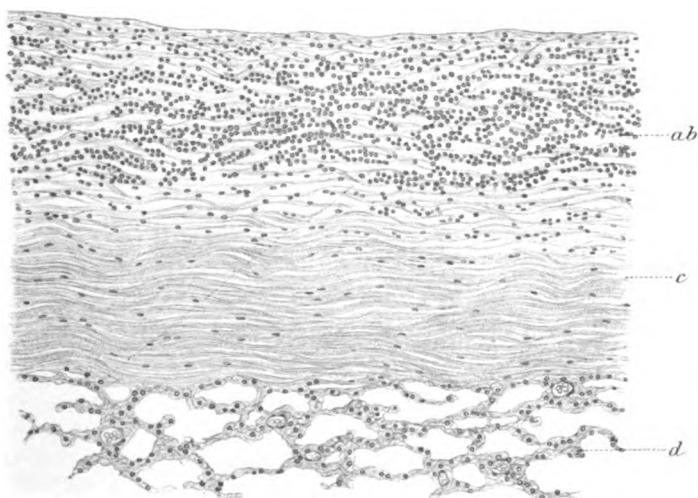


Fig. 5.

Figur 2. Steriler Lungenechinococcus vom Rinde.

- a) Echinokokkenmembran mit rosettenförmigen Vorsprüngen und radiären Fältchen (V).
- b) Bindegewebscyste.
- c) Lungengewebe.

Figur 3. Schnitt durch die Cystenwandung eines fertilen Lungenechinococcus vom Rinde.

- a) Innere zellenlose Bindegewebsfibrillenschicht.
- b) Mittlere zellenhaltige Bindegewebsfibrillenschicht.
- c) Äußere zellenreiche Bindegewebschicht mit jungen Bindegewebszellen.
- d) Lungengewebe.

Figur 4. Schnitt durch die Cystenwandung eines sterilen Lungenechinococcus vom Rinde.

- a) Innere, hier nur aus Riesenzellen bestehende Schicht.
- b) Mittlere, aus jungem Bindegewebe mit zahlreichen Zellen und wenig fibrillärer Substanz bestehende Schicht (links befinden sich drei Riesenzellen in dieselbe eingelagert).
- c) Äußere, aus fibrillärem Bindegewebe mit wenig Zellen bestehende Schicht.
- d) Normales Lungengewebe.

Figur 5. Schnitt durch die Cystenwandung eines sterilen Lungenechinococcus vom Rinde (atypischer Aufbau der Cystenwandung) halbchematisch.

- a u. b) Innere aus zellenreichem, fibrillärem Bindegewebe mit jungen Bindegewebszellen bestehende Schicht.
- c) Äußere aus fibrillärem, zellenhaltigem Bindegewebe bestehende Schicht.
- d) Normales Lungengewebe.

Nachdruck verboten.

Ueber Beziehungen der präzipitinogenen Substanz zur agglutinogenen der Bakterien.

[Aus dem staatlich therapeutischen Institute in Wien (Vorstand: Prof. Dr. R. Paltauf).]

Von

Privatdozent Dr. R. Kraus und
Assistenten am Institute.

Dr. J. Joachim
Assistenten am path.-chem. Laboratorium
des Rudolfspttales.

(Schluß.)

II. Ueber präzipitinozene Substanzen der Bakterien und über Präzipitine.

Einleitend wurde bereits bemerkt, daß Kraus für die angenommene biologische Identität des Präzipitins der Bakterien und des Präzipitins mit dem Agglutinogen und Agglutinin Beweise durch eine Reihe von Versuchen beigebracht hat. Als Hauptgrund für das Festhalten an der verwandtschaftlichen biologischen Beziehung dieser Substanzen sind die von Kraus und v. Pirquet ausgeführten Bindungsversuche anzusehen. Bei der feststehenden Spezifität der Bindung des Agglutinins durch das Agglutinogen mußte ein derartig ausgeführter Bindungsversuch von vornherein die Streitfrage entscheiden. Von dieser Annahme ausgehend, haben ja auch die Vertreter der gegenteiligen Anschauung durch mangelhaft ausgeführte Bindungsversuche die Identität zu bestreiten versucht. Daß es bei Berücksichtigung der quantitativen Verhältnisse doch gelingt, Agglutinin durch Bakterienfiltrate spezifisch zu binden, konnten wir in einer Reihe von Versuchen feststellen.

Auf die weiteren Beweise einzugehen, die wir für die Identität der beiden Substanzen anführen könnten, würde hier zu weit führen; bemerkt sei nur noch, daß bisher kein zwingender Beweis vorliegt, die

Präzipitine der Bakterien mit den Agglutininen nicht in Beziehung zu bringen. (Daß die Serumpräzipitine nichts mit den Hämagglutininen zu tun haben, war uns von jeher bekannt und ist von uns niemals bestritten worden.) Auch ist bis heute kein Versuch bekannt geworden, in dem die Bakterienfiltrate¹⁾ mit dem Immunserum Niederschläge gegeben hätten und die Bakterien von demselben Serum nicht agglutiniert worden wären. Den seinerzeit aufgestellten Satz „wo Agglutination, dort spezifische Niederschläge“ finden wir überall bestätigt. Umgekehrt könnte es wohl vorkommen, daß ein Serum Bakterien agglutiniert, in Bouillon- oder Kochsalzagarfiltraten aber keine Niederschläge erzeugt. Auch ist der Fall möglich, wie Schwoner (13) nachgewiesen hat, daß das mit Bakterien gewonnene Diphtherieserum Diphtheriebacillen agglutiniert, bloß in Kochsalzagarfiltraten Niederschläge erzeugt, nicht aber in Bouillonfiltraten. Diese Erfahrungen widersprechen keineswegs der ganzen Auffassung, da die agglutinogenen i. e. präzipitinogenen Substanzen bei vielen Bakterien löslich sind, daher in Kochsalzagarfiltraten oder Bouillonkulturfiltraten nachzuweisen sein werden (z. B. Typhus-, Cholera-, Pest-, Coli-, Paracoli-, Dysenterie-Bakterien); bei gewissen anderen Bakterien dürfte aber diese Substanz gar nicht löslich sein oder nur das α -Agglutinogen. (Ob wir bei den Diphtheriebacillen beide Agglutinogene [α und β] anzunehmen haben, wissen wir noch nicht; es wäre denkbar, daß nur das α -Agglutinogen in das Filtrat übergeht; dadurch wäre auch verständlich, warum alte Bouillonfiltrate kein Präzipitinogen enthalten, denn das α -Agglutinogen ist labil und dürfte in alten Filtraten bereits abgebaut sein.)

Die folgenden Versuche decken weitere Analogieen zwischen Agglutinin-Agglutinogen und Präzipitin-Präzipitinogen auf.

Daß das Filtrat von Typhusbouillonkulturen nicht identisch ist mit dem der Agarkulturen, hat Pick gezeigt, indem er die wirksame Substanz der Bouillonkulturen mit Alkohol ausfällen konnte, wogegen die der Agarkulturen sich als in Alkohol löslich erwies. Pick bezeichnet die Alkohol fällbare Substanz als Koagulin A, die Alkohol lösliche als Koagulin K. Beide Substanzen sind nach Pick thermostabil, indem sie 5–10 Minuten über der freien Flamme gekocht werden konnten, ohne an Wirksamkeit einzubüßen. Pick hält diese Substanzen von den agglutinogenen als auch untereinander als different. In der Arbeit „Zur Theorie der Agglutination“ hat Kraus bereits die Annahme von Pick, wonach Präzipitinogen und Agglutinogen völlig verschiedene Körper wären, sowie die Arbeiten von Radziewsky, Bail einer ausführlichen Besprechung unterzogen. Im folgenden wird es sich ergeben, daß auch die beiden Körper A und K nicht in dem weiten Sinne voneinander verschieden sind, als Pick anzunehmen geneigt ist.

Wie bereits gesagt, gaben die Versuche von Joos wieder Veranlassung, uns mit diesen Fragen noch einmal ausführlich zu beschäftigen. Wir versuchten es zunächst, die präzipitinogenen Körper in den Filtraten ebenso zu analysieren, wie es Joos mit den Agglutinogenen der Bakterien getan hat. Es war demnach zu entscheiden, ob sich auch in den Filtraten (Bouillonkultur, Agarkultur) und in den Immunseris ebenso thermolabile und thermostabile Substanzen nachweisen lassen wie

1) Nach den angeführten Versuchen ist es notwendig, stets nicht nur auf α -Präzipitinogen, sondern auch auf β -Präzipitinogen zu prüfen.

in den Bakterien selbst. Zu diesem Behufe wurden verschiedenalterige Bouillonkulturen von Typhusbacillen durch Reichel-Filter¹⁾ filtriert, ebenso Kochsalzextrakte aus 1—2-tägigen Agarkulturen und nicht erwärmt und erwärmt dem nicht erwärmten und erwärmten Typhusimmunserum zugesetzt.

Die Versuchsanordnung war stets die gleiche. Die Proben wurden 24 Stunden bei 37° gehalten und eventuell noch weitere 24 Stunden bei Zimmertemperatur beobachtet. Manchmal konnten wir bemerken, daß, wenn innerhalb 24 Stunden keine Niederschläge auftraten, solche erst nach 48 Stunden, allerdings spärlich, nachweisbar waren. Die Filtrate stammten alle von jener Kultur, mit welcher die früher geschilderten Agglutinationsversuche angestellt worden waren; die Sera waren zum Teil frisch gewonnen, zum Teil älterer Provenienz (siehe Agglutinationsversuche).

Typhus- immunserum	Bouillonkulturfiltrate					Kochsalzagarfiltrate				
	nicht erwärmtes Ser. + nicht erw. Filtrat	erwärmtes Ser. + nicht erwärmtes Filtrat	nicht erwärmtes Ser. + erwärmtes Filtrat ²⁾	erwärmtes Serum + erwärmtes Filtrat		nicht erwärmtes Ser. + nicht erw. Filtrat	erwärmtes Ser. + nicht erwärmtes Filtrat	nicht erwärmtes Ser. + erwärmtes Filtrat	erwärmtes Serum + erwärmtes Filtrat	
Pferd „Elsa“. 2 ccm Serum + 2 ccm Filtrat	Niederschlag	kein Niederschlag	Niederschlag	kein Niederschlag		Niederschlag	Niederschlag	kein Niederschlag	kein Niederschlag	









Schon aus diesem ersten orientierenden Versuche sehen wir, daß sich die beiden Filtrate verschieden verhalten und zwar zeigt sich das Bouillonfiltrat thermostabil, das Kochsalzagarfiltrat thermolabil, denn es verliert bei 62° seine Koagulierbarkeit. Es würde demnach die Bouillonkultursubstanz sich wie das β -Agglutinogen (thermostabil), die Kochsalzagarsubstanz wie das α -Agglutinogen (thermolabil) verhalten.

Wir stehen hier ganz ähnlichen Verhältnissen gegenüber, wie wir sie bei den Versuchen über die Agglutinine kennen gelernt haben. Der Anteil des Präzipitins (b), der sich mit dem β -Präzipitinogen verbindet, ist thermolabil, das α -Präzipitin ist thermostabil. Durch Erwärmung auf 62° (durch 1 Stunde) verliert das Serum die Fähigkeit, in Bouillonfiltraten Niederschläge zu erzeugen, ohne seine Wirksamkeit für Kochsalzagarfiltrate eingebüßt zu haben. Um diese Verhältnisse klarer zur Anschauung zu bringen, seien hier folgende Schemen angebracht:









1) Es empfiehlt sich, um brauchbare Filtrate zu bekommen, womöglich ungebrauchte Filter zu verwenden. Wir konnten uns überzeugen, daß ein und dieselbe Kultur unwirksame und wirksame Filtrate lieferte, je nachdem ein bereits gebrauchtes oder neues Filter benutzt wurde.

2) Diese Filtrate widerstehen nicht nur Temperaturen von 62°, 65°, sondern 70° und noch mehr.

Versuch mit Bouillonfiltraten = β -Präzipitinogen (Agglutininogen).
 Immunsorum enthält beide Substanzen (a-Präzipitin = thermostabil, b-Präzipitin = thermolabil) Bouillonfiltrat enthält nur β -Präzipitinogen (thermostabil)

nicht erwärmt		Niederschlag		nicht erwärmt
erwärmt (b-Präzipitin zerstört)		kein Niederschlag		nicht erwärmt
nicht erwärmt		Niederschlag		erwärmt
erwärmt (b-Präzipitin zerstört)		kein Niederschlag		erwärmt

Versuch mit Kochsalzagarfiltraten = α -Präzipitinogen (Agglutininogen = thermolabil).

nicht erwärmt		Niederschlag		nicht erwärmt
erwärmt (b-Präzipitin zerstört)		Niederschlag		nicht erwärmt
nicht erwärmt		kein Niederschlag		erwärmt α -Präzipitinogen zerstört
erwärmt (b-Präzipitin zerstört)		kein Niederschlag		erwärmt α -Präzipitinogen zerstört

Dieser Versuch, der ein vollständiges Analogon zu den Versuchen von Joos (Typus I) darbietet, bestätigt wohl die von Pick gefundene Differenz der beiden Filtrate. Im Widerspruch mit den Angaben Picks steht aber die von uns beobachtete Tatsache, daß die Kochsalzagarsubstanz nicht thermostabil ist. (Pick konnte durch 5–10 Minuten langes Kochen die Wirksamkeit des Koagulins K nicht zerstören.) Doch sei daran erinnert, daß Pick mit vollkommen eiweißfreien Körpern arbeitete, während unsere Substanzen deutliche Eiweißreaktionen zeigten.

Ebenso finden wir eine Verschiedenheit von den Befunden Picks in dem Verhalten unseres Typhusimmunsorum bezüglich der Präzipitinbildung. Pick fand, daß das von ihm verwendete Typhusimmunsorum, welches Koagulin und Agglutinin enthält, $\frac{1}{2}$ – $\frac{3}{4}$ Stunde auf dem Wasserbade einer Temperatur von 58–60° ausgesetzt, seine Eigenschaft mit dem Bakterienkoagulin K und A, Niederschläge zu erzeugen, vollkommen eingebüßt hatte, während die Fähigkeit der Agglutination von Typhusbakterien ungeschwächt erhalten war. Es trifft das von Pick gefundene Verhalten nicht für alle Sera und alle Bakterienprodukte zu. Unser Typhusimmunsorum (vom Pferde „Elsa“; Pick hatte mit Serum des Pferdes „Zoroaster“ gearbeitet) vermag nach 1-stündiger

Erwärmung auf 62° wohl nicht mehr Bouillonfiltrat-substanz (= β -Präzipitinogen, -Agglutinogen-Koagulin A) zu fällen, ist aber noch im stande, in Kochsalzagarfiltraten Niederschläge zu erzeugen.

Voraussetzung für den beschriebenen Ausfall dieses Versuches sind Filtrate, welche sich der Erwärmung gegenüber wie die eben geschilderten verhalten, ein Verhalten, wie wir es in der weit überwiegenden Mehrzahl der Fälle als typisch erkennen konnten (Bouillonfiltrat = β -, Kochsalzagarfiltrat = α -Präzipitinogen). Im folgenden wird sich jedoch zeigen, daß es von dieser Regel Ausnahmen gibt, daß aus nicht näher gekannten Gründen Bouillonkulturfiltrate thermolabil, Kochsalzagarfiltrate thermostabil gefunden wurden. Auch die Alkoholfällbarkeit der Bouillonkulturfiltratsubstanz, die Alkohollöslichkeit der Kochsalzagarfiltratsubstanz scheint nicht in allen Fällen zuzutreffen, da wir letztere (Koagulin K) wiederholt mit Alkohol fällen konnten. Diese Beobachtungen lehrten uns, daß sich für das Verhalten der Filtrate und Immunsera weder der Erwärmung noch der Alkoholfällung gegenüber unter allen Umständen gültige Typen aufstellen lassen; diese Tatsachen zeigten uns auch, daß die von uns (Zeitschr. f. Heilkunde) früher zugestandene Differenz zwischen Präzipitin und Agglutinin im erörterten Sinne nicht mehr aufrecht erhalten werden kann, indem das auf 62° erwärmte Serum, welches noch agglutiniert, im Bouillonfiltrat keinen, im Kochsalzagarfiltrat hingegen Niederschlag zu erzeugen im stande ist.

Ueber Variabilität der präzipitinogenen Substanzen.

Unsere Agglutinationsversuche zeigten, daß das von Joos gewonnene Resultat nicht konstant ist und daß ein bestimmter Versuchsausfall nicht geknüpft ist an ein auf bestimmte Weise gewonnenes Serum (mit lebenden oder erwärmten Bakterien). Wir konnten Versuche anführen, aus denen ganz klar hervorgeht, daß die Qualität und Quantität der einzelnen Agglutinine im Serum sehr variabel ist, und haben die Ursache für diese Verschiedenheit der Sera zurückgeführt zum Teil auf die Ungleichheit der Zusammensetzung der Bakterienleiber, zum Teil auf individuelle Verschiedenheiten des Rezeptorenapparates des Organismus. Bei dieser Gelegenheit gaben wir unserer Meinung Ausdruck, daß das Agglutinogen im Bakterienleib ebenso labil sein dürfte wie das Präzipitinogen der Filtrate.

Nach dem Ausfall des zuletzt geschilderten Versuches soll das Filtrat aus Bouillonkulturen thermostabil, das aus Kochsalzagarextrakten gewonnene thermolabil sein. Aus folgendem ist ersichtlich, daß der Ursprung der Filtrate (ob aus Bouillon- oder Agarkulturen gewonnen) nicht immer einen aprioristischen Schluß auf ihr Verhalten dem Erwärmen gegenüber zulassen.

Diese Versuche wurden mit Filtraten der Kochsalzagarextrakte und Bouillonkulturen des Typhusbacillus sowie des Cholera vibrio ausgeführt; für die Versuche mit Typhusfiltraten verwendeten wir das Serum des Pferdes „Elsa“, für die mit Cholerafiltraten Serum des Pferdes „Diana“ (s. Tabelle p. 78).

Diese Versuchsreihe zeigt, daß man neben dem als „Typus“ hin-

Filtrate aus Typhus- agarkulturen	Filtrate aus Agarkulturen			Resultat
	nicht erwärmtes Serum + nicht erwärmtes Filtrat	erwärmtes Serum + nicht erwärm- tes Filtrat	nicht erwärmtes Serum + er- wärmtes Filtrat	
1) nach 1-tägigem Wachstume mit physiologischer Kochsalzlösung extrahiert; die- selbe Kult. nach 5-tägig. Wachs- tume	2 ccm Filtrat + 3 ccm Serum Niederschlag	2 ccm Filtrat + 3 ccm Serum Niederschlag	2 ccm Filtrat + 3 ccm Serum kein Nieder- schlag	„Typisches“ Ver- halten = thermo- labil = α -Präzi- pitinogen
2) nach 1-tägigem Wachstume mit Kochsalzlösung extrahiert	id. Niederschlag	Niederschlag	Niederschlag	die präzipitino- gene Substanz ist thermostabil = β -Präzipitino- gen
3) nach 3-tägigem Wachstume in Kochsalzlösung aufgeschwemmt, 4 Wochen bei 37° gehalten, dann filtriert	id. 2 ccm F. + 3 ccm Ser. kein Nieder- schlag, 2 ccm F. + 3 ccm Serum nach 46 Stunden spärlicher Niederschlag	—	—	—
4) nach 5-tägigem Wachstume mit Kochsalzlösung aufgeschwemmt, die Aufschwem- mung in Bouillon geimpft und 5 Tage bei 37° ge- halten, dann fil- triert	2 ccm Filtrat + 2 ccm Serum Niederschlag	2 ccm Filtrat + 2 ccm Serum kein Nieder- schlag	2 ccm Filtrat + 2 ccm Serum Niederschlag	verhält sich wie „typisches“ Bouillonkultur- filtrat = β -Prä- zipitinogen
5) nach 4-tägigem Wachstume in Bouillon auf- geschwemmt, die Aufschwemmung in Bouillon ge- impft und 5 Tage bei 37° gehalten, dann filtriert	2 ccm Filtrat + 2 ccm Serum Niederschlag	2 ccm Filtrat + 2 ccm Serum Niederschlag	2 ccm Filtrat + 2 ccm Serum Niederschlag	die präzipitino- gene Substanz ist thermostabil = β -Präzipitino- gen
6) dieselbe Kultur nach 10-tägigem Wachstume in Kochsalzlösung aufgeschwemmt	2 ccm F. + 2 ccm Ser. 2 ccm F. + 3 ccm Ser. 1 ccm F. + 3 ccm Ser. 3 ccm F. + 2 ccm Ser. 3 ccm F. + 1 ccm Ser. kein Nieder- schlag	—	—	—

gestellten Präzipitinogen α in den Filtraten der Kochsalzagarextrakte ein verschiedenes Verhalten des Präzipitinogens nachweisen kann. Das Präzipitinogen α kann gelegentlich auch thermostabil sein. Das Aus-

Filtrate aus Typhusbouillonkulturen	Filtrate aus Bouillonkulturen			Resultat
	Nicht erwärmtes Serum + nicht erwärmtes Filtrat	Erwärmt.Ser. + nicht erw. Filtrat	Nicht erw. S. + erwärmtes Filtrat	
1) nach 5-tägig. Wachstum filtriert	2 ccm F. + 2 ccm S. 2 „ „ + 3 „ „ 1 „ „ + 3 „ „ kein Niederschlag	—	—	—
2) nach 8-tägig. Wachstum filtriert	1 ccm F. + 3 ccm S. Niederschlag	kein Nieder- schlag	Niederschlag	„typisch“ = ther- mostabil = β - Präzipitinogen
3) nach 10-tägig. Wachstum filtriert	a. 2 ccm F. + 2 ccm S. kein Niederschlag, nach Zufügung von 2 ccm eines „typischen“ Typhusbouil- lonfiltrates kein Nieder- schlag b. 2 ccm F. + 3 ccm S. kein Niederschlag, nach Zufügung von 2 ccm eines typischen Typhusbouillon- filtrates Niederschlag	—	—	—
4) nach 12-tägig. Wachstum filtriert	2 ccm F. + 3 ccm S. Niederschlag	2 ccm F. + 3 ccm S. Niederschlag	2 ccm F. + 3 ccm S. k. Niederschl.	„atypisch“ = thermolabil = α - Präzipitinogen
5) nach 2-monat- lich. Wachs- tume filtriert Dasselbe Fil- trat 14 Tage später geprüft	2 ccm F. + 3 ccm S. Niederschlag Niederschlag	2 ccm F. + 3 ccm S. k. Niederschl. Niederschlag	2 ccm F. + 3 ccm S. Niederschlag kein Nieder- schlag	„typisch“ „atypisch“
6) nach 2½-mo- natlichem Wachstume filtriert	2 ccm F. + 3 ccm S. 1 „ „ + 2 „ „ 2 „ „ + 2 „ „ 2 „ „ + 1 „ „ 4 „ „ + 4 „ „ nach 48 Std. kein Nieder- schlag 2 ccm F. + 3 ccm S. kein Niederschlag, dazu 3 ccm altes Bouillonfiltrat: kein Niederschlag 2 ccm F. + 3 ccm S. kein Niederschlag, dazu 6 ccm altes Bouillonfiltrat: Niederschlag	—	—	—
7) nach 3-monat- lich. Wachs- tume filtriert	2 ccm F. + 3 ccm S. Niederschlag	2 ccm F. + 3 ccm S. Niederschlag	2 ccm F. + 3 ccm S. k. Niederschl.	„atypisch“
8) a. nach 1-jähr. Wachstume filtriert b. nach 2-jähr. Wachstume filtriert	2 ccm F. + 3 ccm S. Niederschlag id. Niederschlag	2 ccm F. + 3 ccm S. k. Niederschl. id. k. Niederschl.	2 ccm F. + 3 ccm S. Niederschlag id. Niederschlag	„typisch“ „typisch“

bleiben von Niederschlägen überhaupt (3. und 6. Versuch) ist keine seltene Erscheinung; wir konnten sie auch bei Bouillonfiltraten be-

obachten. Doch werden wir sehen, daß dieser negative Ausfall bloß auf den Abbau, nicht immer auf das vollständige Verschwinden der Präzipitinogene hinweist. Wie später noch gezeigt werden soll, ist das Präzipitinogen so konstituiert wie das Agglutinin. Die Substanz besitzt eine fällbare (koagulable) und eine haptophore (bindende) Gruppe; trotz des Wegfalles der koagulablen kann die bindende Gruppe intakt bleiben, wie dies durch Bindungsversuche leicht nachzuweisen ist (s. Tabelle p. 79).

Auch hier wieder ungleiche Ergebnisse. Neben dem „typischen“ Verhalten des thermostabilen Präzipitinogens β der meisten Bouillonfiltrate finden wir öfters ein atypisches Verhalten insofern, als das Präzipitinogen dem Typus des α -Präzipitinogens folgt (Versuch 4 und 7). Im Versuch 5 sehen wir zuerst ein „typisches“ Bouillonfiltrat; 2 Wochen danach ist das Filtrat aus derselben Kultur bereits verändert und zeigt das Verhalten der „typischen“ Kochsalzagarfiltrate.

In einzelnen Versuchen begegnen wir wieder einem negativen Ergebnisse insofern, als überhaupt — auch bei Variieren der Versuchsbedingungen — keine Niederschläge entstehen. Dieses Resultat kann, wie sich gezeigt hat, durch vollständiges Fehlen oder Zerstörung des Präzipitinogens zu stande kommen, oder, wie einzelne Versuche bewiesen haben, bloß durch Ausfall der koagulablen Gruppe bedingt sein. Die Versuche 3 und 6 zeigen, daß, wenn genau quantitativ vorgegangen und zu dem unwirksamen Gemisch (Filtrat + Serum) wirksames Bouillonfiltrat zugesetzt wird, man erst bei bestimmten quantitativen Verhältnissen Niederschläge erhält.

Ganz ähnliche Versuche haben wir mit Cholerakulturfiltraten angestellt und konnten auch hier eine Inkonstanz im Verhalten der Präzipitinogene nachweisen.

Filtrate aus Cholera-, Agar- und Bouillonkulturen.

	Nicht erwärmtes Serum + nicht erwärmtes Filtrat	Erwärmtes Serum + nicht erwärmtes Filtrat	Nicht erwärmtes Serum + er- wärmtes Filtrat	Resultat
Agarkulturen nach 2- u. 4-tägigem Wach- stume mit phys. Koch- salzlösung extrahiert und filtriert	2 ccm F. + 2 ccm S. Niederschlag	2 ccm F. + 2 ccm S. kein Niederschl.	2 ccm F. + 2 ccm S. Niederschlag	„atypisch“
Bouillonkultur, nach 10-tägigem Wach- stume filtriert	id. Niederschlag	id. Niederschlag	id. kein Niederschl.	„atypisch“
Bouillonkulturen nach 8-tägigem und nach 1-jährigem Wach- stume filtriert	Niederschlag	kein Niederschl.	Niederschlag	„typisch“

Auch aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Thermolabilität oder Thermostabilität der koagulablen Gruppe des Präzipitinogens keine solche Konstanz aufweist, daß man berechtigt wäre, diese Eigenschaft allein als fixes Kriterium eines bestimmten Präzipitinogens anzusehen, wenn wir auch überwiegend häufig die Bouillonkulturfiltrate thermostabil (β -Präzipitinogen), die Kochsalzagarfiltrate thermolabil (α -Präzipitinogen) fanden. Diese Variabilität müssen wir auf die präzipitinogene Substanz selbst zurückführen, da das zu den Versuchen verwendete Immunserum immer

dasselbe war. Denn dieses inkonstante Verhalten ließ sich namentlich exakt nachweisen, wenn ein und dieselbe Kultur zu verschiedenen Zeiten filtriert wurde. So konnten wir in einem bereits angeführten Versuche in ein und derselben Kultur die Aenderung des Präzipitinogens nachweisen; ein noch eklatanteres Beispiel hierfür zeigt uns der Versuch, in welchem das Filtrat einer 2 Monate alten Typhusbouillonkultur zuerst das „typische“ Verhalten des Präzipitinogens β zeigte, nach 14-tägigem Stehen des Filtrates bei Zimmertemperatur das Verhalten der Kochsalzagarfiltrate aufwies und nach weiteren 8 Tagen überhaupt keinen Niederschlag mehr gab. Ob die Thermolabilität des Präzipitinogens einmal als selbständige, primäre Eigenschaft aufzufassen wäre, ein anderes Mal bloß als eine Etappe (Abbauprodukt) des sich ändernden Präzipitinogens, darüber läßt sich zur Zeit nichts Bestimmtes aussagen.

Wie verhält es sich nun mit der von Pick angegebenen Differenzierung dieser beiden Körper? Wie bereits auseinander gesetzt wurde, konnte Pick aus alten Bouillonkulturen (Typhusbacillen) mittels Alkohol die präzipitinogene Substanz, die er Bakterienkoagulin A nannte, ausfällen, während das Koagulin K, welches er durch Extraktion junger und alter Agarkulturen mittels Kochsalzlösung gewann, sich durch Alkohol als nicht fällbar erwies. (Bemerkt sei noch, daß das Koagulin K Picks thermostabil war.)

Um auch über die Frage Aufschluß zu erhalten, ob die von Pick gefundene Eigenschaft dieser beiden Körper (Alkoholfällbarkeit und -löslichkeit) konstant oder variabel ist, haben wir einzelne diesbezügliche Versuche angestellt.

1. Versuch. Eine 3 Monate alte Typhusbouillonkultur wird filtriert das Filtrat geprüft.

2 ccm Filtrat, nicht erwärmt	+ 3 ccm Serum, nicht erwärmt:	Niederschlag
2 „ „ „	+ 3 „ „ erwärmt:	
2 „ „ erwärmt	+ 3 „ „ nicht erwärmt:	kein Niederschlag

Dieses Filtrat verhält sich demnach „atypisch“, d. h. wie α -Präzipitinogen, es ist thermolabil.

140 ccm dieses Filtrates wurden mit 840 ccm absoluten Alkohols gefällt, der Niederschlag auf ein Filter gebracht, getrocknet und in 10 ccm sterilen Wassers gelöst, filtriert.

2 ccm dieses Filtrates gaben mit 3 ccm Immunserum starken Niederschlag. Das alkoholische Filtrat wurde im Vakuum eingedampft, der Rückstand in 10 ccm sterilen Wassers gelöst, die Lösung mit Immunserum geprüft: kein Niederschlag.

Das thermolabile Präzipitinogen konnte demnach mit Alkohol vollständig ausgefällt werden.

2. Versuch. 1 Bouillonkolben (200 ccm) wird mit einer Bouillon-aufschwemmung von 3 Choleraagarkulturen (nach 5-tägigem Wachstum) versetzt und bleibt 5 Tage bei 37°; danach wird die Kultur filtriert, das Filtrat geprüft.

2 ccm nicht erwärmtes Filtrat	+ 3 ccm nicht erwärmtes Serum:	Niederschlag
2 „ „ „	+ 3 „ erwärmtes Serum:	kein Niederschlag
2 „ „ erwärmtes Filtrat	+ 3 „ nicht erwärmtes Serum:	Niederschlag

Das Filtrat zeigt die Reaktion des Präzipitinogens β , verhält sich thermostabil.

80 ccm des Filtrates werden mit 480 ccm 95-proz. Alkohols gefällt. Der reichlich entstehende gelbbraune Niederschlag wird auf ein Filter

gebracht, abgepreßt, bei Zimmertemperatur getrocknet, in 10 ccm sterilen Wassers gelöst, filtriert, das Filtrat geprüft.

2 ccm nicht erwärmtes Filtrat	+ 2 ccm nicht erwärmtes Serum:	Niederschlag
2 " " " "	+ 2 " erwärmtes Serum:	kein Niederschlag
2 " erwärmtes Filtrat	+ 2 " nicht erwärmtes Serum:	Niederschlag

Das alkoholische Filtrat wird im Vakuum eingedampft, der Rückstand in 10 ccm Wasser gelöst, die Lösung geprüft.

2 ccm Lösung	+ 2 ccm Serum:	kein Niederschlag
2 " " "	+ 3 " " "	" "
1 " " "	+ 3 " " "	" "

Die präzipitinogene Substanz β konnte ebenso wie im früheren Versuche die präzipitinogene Substanz α mit Alkohol vollständig ausgefällt werden.

3. Versuch. Der Inhalt von 15 Agarflaschen (Typhusbacillen) wurde nach 40-stündigem Wachstume in je 30 ccm Kochsalzlösung aufgeschwemmt, durch Reichel-Filter filtriert, das Filtrat geprüft.

2 ccm nicht erwärmte. Filtrat	+ 3 ccm nicht erwärmte. Serum („Elsa“):	Niederschlag
2 " " " "	+ 3 " erwärmtes Serum:	" "
2 " erwärmtes Filtrat	+ 3 " nicht erwärmtes Serum:	kein Niederschl.

Dasselbe Resultat ergab sich bei Anwendung des Serums „Edgar“, nur waren die Niederschläge spärlicher.

Das Filtrat verhielt sich demnach der Erwärmung gegenüber wie „typisches“ Kochsalzagarfiltrat = Präzipitinogen α .

200 ccm des Filtrates wurden mit 2000 ccm absoluten Alkohols versetzt; es entstand ein starker, flockiger, gelblicher Niederschlag, der, auf ein Filter gebracht, in wenig Wasser gelöst, neuerdings mit der 10fachen Menge absoluten Alkohols gefällt wurde, welche Prozedur noch einmal wiederholt wurde; die alkoholischen Filtrate wurden vereinigt. Der sonst 3mal umgefällte Niederschlag wurde in 15 ccm sterilen Wassers gelöst, die Lösung geprüft.

2 ccm nicht erwärmte Lös.	+ 3 ccm nicht erw. Ser. („Elsa“):	sehr stark. Niederschlag
2 " " " "	+ 3 " erwärmtes Serum:	" "
2 " erwärmte Lösung	+ 3 " nicht erwärmtes Serum:	kein Niederschlag

Serum „Edgar“ ergab analoge Verhältnisse, nur etwas spärlichere Niederschläge.

Die vereinigten alkoholischen Filtrate wurden im Vakuum eingedampft, der Rückstand in 15 ccm sterilen Wassers gelöst und geprüft: Nach 24 Stunden waren weder durch Serum „Elsa“ noch durch Serum „Edgar“ Niederschläge zu erzielen; erst nach 48 Stunden konnten in der Kombination: 2 ccm nicht erwärmtes Filtrat + 3 ccm nicht erwärmtes Serum („Elsa“ und „Edgar“) äußerst spärliche Niederschläge beobachtet werden, die übrigen Röhrchen blieben klar.

Somit konnte auch aus jungen Kochsalzagarextrakten das thermolabile α -Präzipitinogen mittels Alkohol fast vollständig ausgefällt werden.

4. Versuch. 5 Tage alte Agarkulturen (Cholera) wurden mit Kochsalzlösung extrahiert und filtriert, das Filtrat geprüft.

2 ccm nicht erwärmtes Filtrat	+ 2 ccm nicht erwärmtes Serum:	Niederschlag
2 " " " "	+ 2 " erwärmtes Serum:	kein Niederschlag
2 " erwärmtes Filtrat	+ 2 " nicht erwärmtes Serum:	Niederschlag

35 ccm dieses thermolabilen Filtrates wurden mit 350 ccm absoluten Alkohols gefällt, der Niederschlag wie oben behandelt, die Lösung des Niederschlages geprüft.

2 ccm Lösung + 2 ccm Serum („Diana“): Niederschlag.

Das alkoholische Filtrat, im Vakuum eingedampft, gelöst und mit Serum versetzt, gibt keinen Niederschlag.

Hier war also ein aus Kochsalzagarfiltraten gewonnenes thermostabiles (β -Präzipitinogen) vollständig durch Alkohol gefällt worden.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Trennung in alkoholfällbare und -lösliche präzipitinogene Substanzen nicht der in thermostabile und -labile Substanzen parallel geht, da es uns gelungen ist, die wirksame Substanz sowohl der typischen als der atypischen Bouillon- und Kochsalzagarfiltrate durch Alkohol zu fällen.

Es mag ferner der Umstand auffallend erscheinen, daß wir, im Gegensatz zu Pick, in unseren zwei daraufhin gerichteten Versuchen auch aus Kochsalzextrakten junger Agarkulturen die präzipitinogene Substanz fast ausschließlich in der Alkoholfällung erhielten, während Pick dieselbe als alkohollöslich beschreibt. Unsere Substanzen unterschieden sich jedoch von denen Picks dadurch, daß sie nicht eiweißfrei waren. Auch hat Pick mit einem weit empfindlicheren Immunsérum gearbeitet, es gelang ihm in hoher Verdünnung, Niederschläge zu erzeugen; uns hingegen könnten geringe Mengen etwa im alkoholischen Filtrate enthaltener präzipitinogener Substanz sehr wohl entgangen sein.

Jedenfalls sprechen diese Befunde wieder für die große Variabilität der präzipitinogenen Substanzen.

Immunisierung mit Typhusbakterien.

Nachdem wir festgestellt hatten, daß man in bestimmten Filtraten allein die eine oder die andere präzipitinogene Substanz, nicht, wie in den Bakterien zumeist, beide nebeneinander findet, schien es von Interesse zu sein, auf verschiedene Art gewonnene Immunséra unter einfacheren Bedingungen einer Analyse zu unterziehen. Gleichzeitig sollten uns diese Versuche darüber aufklären, ob ein qualitativer Unterschied besteht zwischen Seris, die bloß mit Bakterien und solchen, die mit Bakterienfiltraten gewonnen wurden. Zunächst seien hier Versuche angeführt mit Immunséris, die durch Injektion von Bakterien erzeugt wurden. Daß man hierbei nicht nur Agglutinin, sondern auch (das von uns als identisch angesehene) Präzipitin erhält, ist bekannt; diese Versuche sollten nun darüber Aufschluß erteilen, ob in der Präzipitinbildung ein Unterschied besteht zwischen Seris, die mit lebenden oder erwärmten Bakterien gewonnen wurden.

Die zur Prüfung verwendeten Filtrate waren vorher mit Serum „Elsa“ (gewonnen durch mittels Erwärmung abgetöteter Kulturen) geprüft und als „typisch“ befunden worden i. e. die Bouillonkulturfiltrate verhielten sich stets thermostabil (β -Präzipitinogen), die Kochsalzagarfiltrate stets thermolabil (α -Präzipitinogen) (s. Tabelle p. 84).

Das vom Kaninchen 254 (nur mit erwärmten Agarkulturen) gewonnene Serum verhält sich genau so wie das vom Pferde „Elsa“ gewonnene. Es enthält wie dieses zwei Präzipitine und zwar ein thermostabiles, das bei 62° nicht mehr zu fällen im stande ist, und ein thermostabiles, welches bei 62° seine koagulable Gruppe behält. Ein Unterschied zwischen den beiden Kaninchenseris war nicht zu beobachten.

Wenn wir, anschließend an diese Versuche, den früher angeführten Agglutinationsversuch mit dem Serum des Kaninchens No. 254 betrachten, so dürfte das dort auffallend erschienene Ergebnis eine Klärung erfahren. Nach dem Ausfalle des jetzt geschilderten Versuches

Serum von Kaninchen No. 1)	Bouillonkulturfiltrate			Kochsalzagarfiltrate		
	nicht erw. Serum + nicht erw. Filtrat	erwärmtes Ser. + nicht erwärmtes Filtrat	nicht erw. Serum + erwärmtes Filtrat	nicht erw. Serum + nicht erw. Filtrat	erwärmtes Ser. + nicht erwärmtes Filtrat	nicht erw. Serum + erwärmtes Filtrat
31 immunisiert mit erwärmten und lebenden Agarkulturen	2 ccm F. + 3 ccm S. Niederschlag	2 ccm F. + 3 ccm S. kein Niederschlag	2 ccm F. + 3 ccm S. Niederschlag	2 ccm F. + 3 ccm S. Niederschlag	2 ccm F. + 3 ccm S. Niederschlag	2 ccm F. + 3 ccm S. kein Niederschlag
254 immunisiert mit erwärmten Agarkulturen	id. Niederschlag	id. kein Niederschlag	id. Niederschlag	id. spärlicher Niederschlag	id. Niederschlag	id. kein Niederschlag

scheint es sicher, daß das Serum des Kaninchens No. 254 sowohl Präzipitin a als Präzipitin b enthält, da wir mit erwärmtem Serum und nicht erwärmtem β -Präzipitinogen (Bouillonfiltrat) keinen, mit erwärmtem Serum und nicht erwärmtem α -Präzipitinogen (Kochsalzagarfiltrat) einen Niederschlag erhielten. Im Agglutinationsversuche hingegen erfolgte im Gemisch: nicht erwärmtes Serum + erwärmte Bakterien keine Agglutination. Da aber das Serum beide Präzipitine i. e. Agglutinine enthält (nicht erwärmte Bakterien in 1400facher Verdünnung agglutiniert), so folgt aus diesen beiden Versuchen, daß das zur Agglutination verwendete Bakterium kein (thermostabiles) Agglutinogen β enthalten konnte, sich demnach ebenso verhielt wie hier das Kochsalzagarfiltrat (α -Präzipitinogen). Dieser Versuch scheint uns deswegen wichtig zu sein, weil er zeigt, daß das Agglutinogen, wie bereits erwähnt, schon im Bakterienleibe ein wechselndes Verhalten zeigen kann, und daß nur nach vorausgehender daraufhin gerichteter Prüfung über das Verhältnis der Agglutinine Bestimmtes ausgesagt werden kann²⁾. Daß auch beide koagulablen Gruppen des Agglutinogens fehlen können, dafür haben wir Beispiele in den bereits angeführten Versuchen von Bail, Müller (14), Lipschütz (l. c.). Es liegt auf der Hand, daß diesem wechselnden Verhalten des Agglutinogens (Präzipitinogens) bei der Bestimmung der Bakterien mittels Serums Rechnung getragen werden muß.

Immunisierung mit Bouillonfiltraten und Kochsalzagarfiltraten von Typhusbacillen.

Wir haben gesehen, daß durch Immunisierung mit Bakterienfiltraten, sei es aus Bouillon- oder Agarkulturen, ein agglutinierendes Serum ebenso wie durch Immunisierung durch Bakterien selbst erhalten werden kann. In der Wirkung, in seinem Gehalte an a- und b-Agglutinin läßt dieses Serum einen Unterschied gegenüber dem durch Bakterien gewonnenen nicht erkennen. Wir wollen nun sehen, wie ein solches Serum sich bei der Präzipitation verhält. Castellani (15) konnte bereits zeigen, daß durch Immunisierung mit Bakterienfiltraten Präzipitine erzeugt werden können.

Die genauen Angaben über die Art der Immunisierung befinden sich auf p. 668 und 669.

1) Die ausführlichen Angaben über die Art der Immunisierung siehe p. 664 ff.

2) Auch die Versuche auf p. 668 (Kaninchenserum No. 341 und 474) zeigen, daß die Bakterien kein β -Agglutinogen enthalten dürften.

Serum vom Kaninchen No.	Bouillonkulturfiltrat				Agarkulturfiltrat				Agglutination			
	nicht erw. Ser. + nicht erwärmtes Filtrat	erwärmtes Ser. + nicht erwärmtes Filtrat	nicht erw. Serum + erwärmtes Filtrat	nicht erw. Ser. + nicht erwärmtes Filtrat	erwärmtes Ser. + nicht erwärmtes Filtrat	nicht erw. Serum + erwärmtes Filtrat	nicht erw. Serum + erwärmtes Filtrat	nicht erw. Serum + erwärmtes Filtrat	nicht erw. Serum + erwärmtes Bakterien	nicht erw. Serum + erwärmte Bakterien	erwärmte Serum + erwärmte Bakterien	erwärmte Serum + erwärmte Bakterien
1) 110 immunisiert mit 89 cem 1 u. 2 Jahre alten, nicht erwärmtem Bouillon- filtrat	2 cem Filtr. + 3 cem Serum Niederschlag	2 cem Filtr. + 3 cem Serum Niederschlag	2 cem Filtr. + 3 cem Serum Niederschlag	2 cem Filtr. + 3 cem Serum spärlicher Niederschlag	2 cem Filtr. + 3 cem Serum Niederschlag	2 cem Filtr. + 3 cem Serum kein Niederschlag	2 cem Filtr. + 3 cem Serum kein Niederschlag	1:400 +	1:300 +	1:20 + 1:50 partiell	1:20 + 1:50 partiell	1:20 + 1:50 partiell
2) 341 immunisiert mit 99 cem 2 Jahre altem Bouillon- filtrat nicht erwärmt	id. Niederschlag	id. kein Niederschlag	id. Niederschlag	id. Niederschlag	id. Niederschlag	id. kein Niederschlag	id. kein Niederschlag	1:400 + 1:500 partiell	1:300 + 1:400 partiell	keine Agglutin.	keine Agglutin.	keine Agglutin.
3) 474 immunisiert mit durch Al- kohol aus Typhusbouillon- filtraten gefällter Substanz (3-Präzipitogen) nicht erwärmt	id. Niederschlag	id. kein Niederschlag	id. Niederschlag	id. Niederschlag	id. Niederschlag	id. kein Niederschlag	id. kein Niederschlag	1:500 +	1:500 +	keine Agglutin.	keine Agglutin.	keine Agglutin.
4) 323 immunisiert mit 119 cem 1 Jahr altem, erwärm- tem Bouillonfiltrat	id. Niederschlag	id. kein Niederschlag	id. Niederschlag	id. Niederschlag	id. Niederschlag	id. kein Niederschlag	id. kein Niederschlag	1:100 +	1:100 +	keine Agglutin.	keine Agglutin.	keine Agglutin.
5) 354 immunisiert mit 73 cem 1 Jahr altem, erwärm- tem Bouillonfiltrat	id. Niederschlag	id. kein Niederschlag	id. Niederschlag	id. Niederschlag	id. Niederschlag	id. kein Niederschlag	id. kein Niederschlag	1:50 +	1:50 +	keine Agglutin.	keine Agglutin.	keine Agglutin.
6) 228 immunisiert mit 78 cem nicht erwärmtem Kochsalzagarfiltrat	id. kein Nie- derschlag (sehr spärlich ?)	id. kein Nie- derschlag	id. kein Nie- derschlag	id. Niederschlag	id. Niederschlag	id. kein Nie- derschlag	id. kein Niederschlag	1:50 + 1:100 partiell	1:50 + 1:100 partiell	1:50 + 1:100 partiell	1:50 + 1:100 partiell	keine Agglutin.

Serum vom Kaninchen No.	Bouillonfiltrate		
	nicht erwärmtes Serum + nicht erwärmtes Filtrat	erwärmtes Serum + nicht erwärmtes Filtrat	nicht erwärmtes Serum + erwärmtes Filtrat
261 immunisiert mit 77 ccm eines erwärmten Typhus- kochsalzagarfiltrates	2 ccm Filtrat + 3 ccm Serum Niederschlag	2 ccm Filtrat + 3 ccm Serum Niederschlag	2 ccm Filtrat + 3 ccm Serum Niederschlag
497 immunisiert mit 76 ccm eines erwärmten Typhus- kochsalzagarfiltrates	id. Niederschlag	id. kein Niederschlag	id. Niederschlag

Bei Durchsicht dieser Tabellen ist man überrascht von dem fast übereinstimmenden Versuchsergebnis: Mit Ausnahme des ersten und des letzten Versuches sind die Resultate der Einwirkung der auf verschiedene Weise gewonnenen Sera im erwärmten oder nicht erwärmten Zustande auf beide Präzipitine ganz gleichlautend. Es ergibt sich zunächst aus diesen Versuchen, daß man durch Immunisierung mit Präzipitinogen nicht nur Agglutinine (und zwar α und β), sondern auch Präzipitine (α und β) gewinnen kann. Des weiteren zeigt es sich, daß man mit Präzipitinogen β nicht nur — wie zu erwarten stand — Präzipitin β , sondern auch Präzipitin α , Agglutinin α und β erhält. Diese Resultate sind deshalb auffallend, weil dieselben Sera, auf Agglutination geprüft, vom Typus abweichende Ergebnisse geliefert hatten. Dieses wechselnde Verhalten bei der Agglutination dürfte bloß auf das wechselnde Verhalten der Agglutinogene im Bakterienleibe zurückzuführen sein, da ja die Sera, auf reine Substanzen (Präzipitinogen α und β) geprüft, konstantes Verhalten aufweisen. Daß aber selbst bei Immunisierung mit bloß einem bestimmten Körper (Präzipitinogen β) ein Serum resultieren kann, welches nicht dem Typus folgen muß, zeigt zunächst der 1. Versuch; die Kombination: erwärmtes Serum + nicht erwärmtes Bouillonfiltrat sollte keinen Niederschlag geben, wenn das Serum ein typisches Präzipitin β enthielt, da dieses ja thermostabil ist. Der dazu gehörige Agglutinationsversuch, der bei Erwärmung des Serums und der Bakterien nur Abnahme (nicht vollständiges Fehlen) der Agglutination zeigt, weist darauf hin, daß auch das β -Agglutinin diesmal der Erwärmung auf 62° widerstand. Das Serum des 6. Versuches, erzielt durch Immunisierung mit α -Präzipitinogen, scheint wenig oder gar kein β -Präzipitin zu enthalten; doch sollen schon die folgenden Versuche zeigen, daß dieser Befund kein konstanter ist, daß man vielmehr durch Immunisierung mit α -Präzipitinogen ebenfalls beide Präzipitine sowie Agglutinine erzeugen kann.

Immunisierung mit erwärmten Kochsalzagarkulturfiltraten (Typhusbacillen).

Die bisherigen Versuche haben gezeigt, daß man sowohl mit lebenden als erwärmten Bakterien, sowohl mit α - als mit β -Präzipitinogen Agglutinin und Präzipitin im Organismus erzeugen kann. Hierbei wurde intaktes Agglutinogen (lebende Bakterien = α + β -Agglutininogen; erwärmte Bakterien = β -Agglutininogen) und intaktes Präzipitinogen

Kochsalzagarfiltrate			Agglutination			
nicht erw. Ser. + nicht erwärmtes Filtrat	erwärmtes Ser. + nicht erwärmtes Filtrat	nicht erw. Serum + erwärmtes Filtrat	nicht erw. S. + nicht erwärmte Bakterien	erwärmte S. + nicht erwärmte Bakterien	nicht erw. Serum + erwärmte Bakterien	erwärmtes Serum + erwärmte Bakterien
2 ccm F. + 3 ccm Ser. Niederschlag	2 ccm F. + 3 ccm Ser. Niederschlag	2 ccm F. + 3 ccm Ser. kein Niederschlag	1:50 +	1:50 +	keine Ag- glutination	keine Ag- glutination
id. Niederschlag	id. Niederschlag	id. kein Niederschlag	1:200 +	1:200 +	keine Ag- glutination	keine Ag- glutination

(nicht erwärmtes oder erwärmtes Bouillonkulturfiltrat = β -Präzipitinogen) (nicht erwärmtes Kochsalzagarfiltrat = α -Präzipitinogen) zur Immunisierung verwendet. Ueber die Frage, ob ein der koagulablen Gruppe beraubtes Agglutinogen oder Präzipitinogen, dessen bindende (haptophore) Gruppe aber intakt ist, im stande wäre, im Organismus Präzipitine hervorzurufen, war bisher nichts bekannt¹⁾.

Unsere Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß ein „typisches“ (nur thermolabiles, α -Präzipitinogen enthaltendes) Kochsalzagarfiltrat durch 1 Stunde auf 62° erwärmt wurde; mit diesem seiner fällbaren Gruppe beraubten Präzipitinogen wurden Kaninchen immunisiert (s. Tab. p. 86 und 87).

Das Ergebnis dieses Versuches stimmt mit dem auf p. 670 verzeichneten überein, wonach ein seiner koagulablen Gruppe beraubtes Präzipitinogen α im Organismus noch Agglutinine hervorzurufen im stande ist. Ein solches Präzipitinogen α vermag also nicht nur Agglutinine, sondern auch beide Präzipitine zu erzeugen, ebenso wie lebende oder erwärmte Bakterien, ebenso wie Präzipitinogen β . Ueber diese Versuche hatte Kraus bereits dem internationalen hygienischen Kongreß in Brüssel 1903 berichtet und sie im Sinne der Ehrlichschen Lehre verwertet.

Das mit diesem Präzipitinogen gewonnene Serum unterscheidet sich von andersartig gewonnenen Seris gar nicht; es enthält beide Präzipitine in typischer Weise (Kaninchen No. 497) und kann eventuell, wie es auch bei anderen Seris gefunden wurde, ein thermostabiles b-Präzipitin (Kaninchen No. 261) enthalten.

Immunisierung mit Extrakten aus Typhuskulturen nach der Methode von Brieger.

In der 2. Mitteilung „Weitere Versuche zur Darstellung spezifischer Substanzen aus Bakterien“ konnten Brieger (16, 17) und Mayer durch Immunisierung mit einer nach eigener Methode präparierten agglutininbildenden Substanz bloß Agglutinin und kein Präzipitin erzeugen. Daß dieses Immunserum keine Antikörper enthielt, war wohl denkbar und nicht auffallend, denn Agglutinine und Bakteriolyse können, müssen aber nicht in ein und demselben Immunserum nebeneinander vorkommen. Anders ist es mit dem Agglutinin und Präzipitin der Bakterien. Da wir, wie die vorherigen Auseinandersetzungen zur

1) Die Versuche auf p. 670 zeigten, daß mit solchen Filtraten gewonnene Sera Agglutinin enthalten.

Genüße lehren, vollauf berechtigt sind, die Identität dieser Körper anzunehmen, war uns der diesbezügliche Befund von Brieger und Mayer nicht verständlich. Um diesen Widerspruch aufzuklären, haben wir die Versuche Briegers und seiner Mitarbeiter Schütze und Mayer wiederholt. Die Versuche wurden so ausgeführt, daß wir zunächst die antigene Substanz sowohl nach der ersten Angabe Briegers als nach seiner zweiten Methode darstellten und mit diesen beiden Substanzen Kaninchen immunisierten. Bevor wir aber mit den derartig gewonnenen Seris die Versuche anstellten, mußten wir vorher Einiges über die Lösungen, die aus den Bakterien gewonnen waren, erfahren. Nach unseren jetzigen Erfahrungen konnte die Möglichkeit vorliegen, daß diese Agglutinogene überhaupt keine fällbare Gruppe besitzen, nur die bindende. Solche Lösungen würden dann, wie nach unseren Versuchen klar ist, wohl Agglutinine und Präzipitine hervorrufen, aber selbst vom Immunserum nicht gefällt werden können, da sie ja der fällbaren Gruppe beraubt sind. Nachdem aber Brieger und Mayer das Serum bloß auf die künstlich dargestellten Bakterienfiltrate, nicht auf native geprüft haben, würde, wenn unsere Voraussetzung zuträfe, der Widerspruch ohne weiteres erklärt sein.

Es wurden demnach die nach Briegers Methode gewonnenen Lösungen mit dem Immunserum, welches in Filtraten von Bouillon- und Agarkulturen typische Niederschläge erzeugte, versetzt, um über die Fällbarkeit dieser Lösungen Aufschluß zu erhalten.

2 ccm Filtrat	I	+	2 ccm Serum	kein Niederschlag
2 "	"	I	+ 3 "	nach 48 Std. sehr spärlicher Niederschlag
2 "	"	II	+ 2 "	} nach 48 Stunden kein Niederschlag
2 "	"	II	+ 3 "	
3 "	"	II	+ 2 "	
2 "	"	III	+ 2 "	} nach 48 Stunden kein Niederschlag
2 "	"	III	+ 3 "	
7 "	"	III	+ 3 "	
3 "	"	III	+ 1 "	

Trotzdem also dieses Serum in nativen Filtraten aus Typhusbouillon- und Agarkulturen Niederschläge erzeugt, treten nach Zusatz desselben Serums zu zwei verschiedenen Filtraten II und III, selbst bei Zusatz größerer Mengen, nicht einmal nach 48 Stunden Niederschläge auf. Nur in Filtrat I sahen wir erst nach 48 Stunden und nach Zusatz von 3 ccm sehr spärliche Niederschläge eintreten. Es dürfte nach dem Ausfalle dieser Versuche schon klar sein, daß das Resultat Briegers dadurch beeinträchtigt wurde, daß seine Lösungen nicht mehr koagulabel waren. Diese Annahme erscheint uns plausibler als die, welche Brieger für den negativen Ausfall des Präzipitationsversuches verantwortlich macht; Brieger sucht die Ursache in der starken Verdünnung der Substanz in Wasser.

Nachdem es schon durch diesen Versuch wahrscheinlich gemacht war, daß der Ausfall der Versuche von Brieger und Mayer keine Schlußfolgerungen über ein eventuell entstandenes Präzipitin im Immunserum zuläßt, wollen wir doch noch den direkten Beweis erbringen, daß sowohl durch die nach der 1. als nach der 2. Methode gewonnenen Lösungen ein Immunserum entsteht, welches nicht nur Agglutinin, sondern auch Präzipitin enthalten muß. Allerdings haben wir als Reagens

Serum vom Kaninchen No.	Bouillonkulturfiltrat				Kochsalzagarfiltrat				Agglutination			
	nicht erw. Ser. + nicht erwärmtes Filtrat	erwärmtes Ser. + nicht erwärmtes Filtrat	nicht erw. Serum + erwärmtes Filtrat	nicht erw. Ser. + nicht erwärmtes Filtrat	erwärmtes Ser. + nicht erwärmtes Filtrat	nicht erw. Serum + erwärmtes Filtrat	nicht erw. S. + nicht erwärmte Bakterien	erwärmte Serum + nicht erwärmte Bakterien	nicht erw. Serum + nicht erwärmte Bakterien	erwärmte Serum + erwärmte Bakterien	erwärmte Serum + erwärmte Bakterien	erwärmte Serum + erwärmte Bakterien
1) 226 immunisiert vom 17. VI. bis 30. VII. mit 82,5 ccm des nach Briegers Methode I bereiteten Agglutins subkutan	2 ccm Filtr. + 3 ccm Serum Niederschlag	—	—	—	2 ccm Filtr. + 3 ccm Serum Niederschlag	—	1:1000 +	1:1000 +	1:200 + 1:300 partiell	1:100 keine Agglutin.		
2) 391 immunisiert vom 27. VI. bis 30. VII. mit 74 ccm desselben Agglutins in- traperitoneal und sub- kutan	id. Niederschlag	—	—	—	id. Niederschlag	—	1:1000 +	1:1000 +	1:100 keine Agglutin.	1:100 keine Agglutin.		
3) 278 immunisiert vom 5. VIII. bis 19. VIII. mit 47,8 ccm des nach Briegers Methode II bereiteten Agglutins intravenös und intrapertoneal	id. Niederschlag	2 ccm Filtr. + 3 ccm Serum kein Niederschlag	2 ccm Filtr. + 3 ccm Serum Niederschlag	id. Niederschlag	2 ccm Filtr. + 3 ccm Serum Niederschlag	2 ccm Filtr. + 3 ccm Serum kein Niederschlag	1:10000 +	1:5000 + 1:10000 partiell	1:100 keine Agglutin.	1:100 keine Agglutin.		
4) 219 wird ebensolange und mit gleicher Menge immuni- siert wie Kaninchen No. 278 intravenös und intraperi- toneal	id. Niederschlag	id. kein Niederschlag	id. spärlicher Niederschlag	id. Niederschlag	id. Niederschlag	id. kein Niederschlag	1:2000 + 1:5000 partiell	1:2000 + 1:5000 partiell	1:100 keine Agglutin.	1:100 keine Agglutin.		

nicht die nach Brieger dargestellten, zur Immunisierung verwendeten Filtrate benutzt, sondern native (s. Tabelle p. 89).

Damit glauben wir zweifellos erwiesen zu haben, daß ein Immunserum, gewonnen mit nach Briegers Methoden dargestellter agglutinogener resp. präzipitinogener Substanz, sowohl Agglutinin als auch Präzipitin enthält. Dieses Agglutinin und Präzipitin verhält sich genau so wie die mit Bakterien oder nativen Filtraten hergestellten Immunsustanzen. Im Agglutinin und Präzipitin lassen sich auch hier thermolabile und thermostabile Substanzen nachweisen; daß die Anteile derselben nicht in jedem Immunserum die gleichen sein müssen, war nach dem früher Gesagten vorauszusehen. Es wird uns daher das Resultat des 4. Versuches, wonach im Serum des Kaninchens No. 219 wenig b-Präzipitin enthalten sein dürfte, nichts Auffallendes bieten, da wir den gleichen Verhältnissen bereits begegnet sind. Auch dieser Versuch zeigt, welche Rolle, unabhängig vom Immunisierungsmaterial, dem Rezeptorenapparate des Organismus zuzuschreiben ist. Betreffs der Agglutinationsversuche mit diesen Seris wäre nichts weiter zu sagen; sie sind zum Teil nach dem Typus ausgefallen, zum Teil zeigen sie die uns bereits bekannten Abweichungen.

Ueber Präzipitoide.

In einzelnen Versuchen konnten wir die Beobachtung machen, daß nicht erwärmte Sera mit Filtraten aus Bouillonkulturfiltraten (β -Präzipitinogen) entweder keine oder nur sehr spärliche Niederschläge erzeugt, mit α -Präzipitinogen (Kochsalzagarkulturfiltraten) hingegen typische Niederschläge gegeben haben. Ob in diesen Seris von der intakten β -Substanz überhaupt nur sehr wenig enthalten oder wenig intakte Substanz und viel Präzipitoid enthalten ist, konnte in unseren Versuchen nicht festgestellt werden. Aus den Versuchen von Kraus und v. Pirquet wissen wir, daß die Präzipitine sowie die Agglutinine aus einer koagulablen und einer selbständigen bindenden Gruppe bestehen; nach Wegfall der koagulablen kann die bindende noch erhalten sein und stellt dann das sogenannte Präzipitoid¹⁾ dar. Ob der Abbau beide Agglutinine i. e. Präzipitine betrifft, ist eine offene Frage, deren Entscheidung spätere Versuche bringen sollen. Ein Versuch, den wir hier kurz anführen wollen, würde dafür sprechen, daß der Abbau des Präzipitins derart erfolgt, daß zunächst das thermolabile b-Präzipitin seine koagulable Gruppe verliert. Ein 2 Jahre altes, mit Typhusbacillen gewonnenes Immunserum (Pferd) vermag mit β -Präzipitinogen nicht mehr Niederschläge zu geben, wohl aber noch mit α -Präzipitinogen.

Daß man auch schon in frischen Seris Agglutinoide nachweisen kann, dafür sprechen Versuche von Volk und de Waele (18), daß man auch in frischen Seris schon Präzipitoiden begegnen kann, zeigt folgender Versuch:

1) Auch die präzipitinogenen und agglutinogenen Substanzen sind derart zusammengesetzt, daß wir eine koagulable und eine bindende (haptophore) Gruppe annehmen müssen. Auch hier kann nach Wegfall der koagulablen die bindende Gruppe erhalten bleiben. In Ermangelung einer passenden Bezeichnung legen wir so abgebauten Präzipitinogenen, Agglutinogenen gleichfalls die Benennung: „Präzipitoid, Agglutinoid“ bei und zwar „der Bakterien“ zur Unterscheidung vom „Präzipitoid, Agglutinoid des Immunserums“.

Serum des Pferdes „Edgar“, gewonnen durch Immunisierung mit lebenden Typhusbouillonkulturen, wird frisch zu Bouillonkulturfiltraten (β -Präzipitinogen) zugesetzt, ohne daß ein Niederschlag entstanden wäre, der hingegen in Kochsalzagarfiltraten deutlich zu beobachten ist.

2 ccm Bouillonfiltrat + 1, 2, 3, 4 ccm Serum „Edgar“: nach 24 Std. kein Niederschlag (nur in einzelnen Röhrchen nach 48 Std. sehr spärliche Niederschläge)

5 ccm Bouillonfiltrat + 4 ccm Serum „Edgar“: kein Niederschlag

2 ccm Kochsalzagarfiltrat + 3 ccm Serum „Edgar“: Niederschlag

Wurde nun zu jenen Proben, in denen keine Niederschläge aufgetreten waren, ein Serum zugesetzt, welches mit demselben β -Präzipitinogen starke Niederschläge gegeben hatte, so entstanden trotzdem keine oder bei Variieren der quantitativen Verhältnisse nur sehr spärliche Niederschläge. Diese Tatsache wurde auch mit dem früher erwähnten älteren Typhusserum festgestellt, so daß wir uns berechtigt halten, in manchen Seris Serumpräzipitoide b anzunehmen.

Schlußbetrachtungen.

Aus alledem, was hier und schon in früheren Arbeiten vorgebracht wurde, geht hervor, daß wir berechtigt sind, an der von uns vertretenen Anschauung der biologischen Beziehung der Agglutinine und Präzipitine der Bakterien einerseits, der Agglutinogene und Präzipitinogene der Bakterien andererseits festzuhalten. Beide Substanzen sind zunächst dem Baue nach ganz gleich, indem die einen sowie die anderen eine koagulable und eine bindende (haptophore) Gruppe besitzen. Durch äußere Einflüsse in vitro (Licht, Wärme etc.) und auch im Organismus können Agglutinine, Präzipitine sich derart verändern, daß nach Wegfall der Koagulabilität zunächst bloß die bindende Gruppe erhalten bleibt. Solche abgebaute Körper nennen wir Serumagglutinoide, -präzipitoide. Durch diese Veränderung können die Körper eine erhöhte Avidität zum Agglutinogen-Präzipitinogen erlangen (Proagglutinoid-Präzipitoid). Geht die Veränderung noch weiter vor sich, so kann die Immuns substanz völlig zerstört werden. Ein analoges Verhalten finden wir bei dem Agglutinogen und Präzipitinogen. Auch diese Körper können Veränderungen erleiden, die sie ihrer koagulablen Gruppe berauben, wodurch Bakterien unfähig werden, zu agglutinieren, Filtrate keine Niederschläge geben. Die bindende Gruppe kann hierbei erhalten bleiben, so daß solche Körper ihre spezifische Bindungsfähigkeit bewahren. (Diese Tatsachen haben insofern praktische Bedeutung, als einerseits bei der Auswertung eines Serums Fehler unterlaufen können, wenn bloß in niedrigen Verdünnungen geprüft wird (z. B. bei der Gruber-Widalschen Reaktion), andererseits muß bei der Bakterienbestimmung mittels Serums diese Erscheinung berücksichtigt werden.) Agglutinin und Präzipitin in einem Immunserum sind nicht einheitliche Körper. Das thermolabile Agglutinin, Präzipitin verliert bei 62° die Fähigkeit, zu agglutinieren, zu fällen, behält aber seine spezifische Bindungsfähigkeit (Agglutinoid, Präzipitoid). Der Gehalt des Immunserums an diesen beiden (a- und b-)Substanzen ist nicht konstant; zumeist lassen sich beide nachweisen, doch kann man auf Sera stoßen, in welchen bloß ein Agglutinin, ein Präzipitin vorhanden ist, das andere Agglutinin, Präzipitin nur als Agglutinoid, Präzipitoid. Auch im Agglutinogen, Präzipitinogen lassen sich Körper nachweisen; die thermolabil (α) und thermostabil (β) sind. Durch passende Versuche (Joos) läßt sich nun zeigen, daß dem thermo-stabilen Agglu-

tinogen-Präzipitinogen ein thermolabiles Agglutinin, Präzipitin entspricht sowie umgekehrt dem thermolabilen Agglutininogen-Präzipitinogen ein thermostabiles Agglutininogen-Präzipitin. Auch die beiden Agglutinogene, Präzipitinogene (α und β) zeigen in ihrem quantitativen Verhalten keine Konstanz. Es läßt sich nicht, wie Joos meint, der Gehalt der Bakterien an α - oder β -Substanz von vornherein präzisieren; das Verhältnis dieser beiden Substanzen zueinander ist vielmehr ein wechselndes. Ein und dasselbe Bakterium enthält, zu verschiedenen Zeiten untersucht, auf verschiedenen Nährböden gezüchtet, einmal mehr, das andere Mal weniger an α - oder β -Agglutinogen. Es kann vorkommen, daß sich nur ein Agglutinogen nachweisen läßt, weil das andere im Bakterium als Agglutinoid enthalten ist oder ganz fehlt. Mittels der von Joos ausgeführten Analyse sind wir aber im stande, den jeweiligen Gehalt des Bakteriums an Agglutinogenen zu ermitteln. Dieses wechselnde Verhalten der beiden Agglutinogene im Bakterium läßt schon a priori erschließen, daß auch in Bakterienfiltraten diese Substanzen keiner unbedingten Konstanz unterliegen. Unsere Versuche sprechen zwar dafür, daß die mit Kochsalzlösung extrahierten Agarkulturen in der Regel nur das thermolabile α -Agglutinogen, die Bouillonkulturfiltrate das thermostabile β -Agglutinogen enthalten, als gesetzmäßig können diese Befunde aber nicht hingestellt werden. Wie unsere Versuche lehrten, findet man auch in Kochsalzagarextrakten thermostabile, in Bouillonkulturfiltraten thermolabile Körper. Kurz, sowohl die Agglutinogene als auch die Präzipitinogene unterliegen einem stetigen Wechsel. Ob ein Agglutinogen α vom anderen β abstammt oder umgekehrt, ließ sich bisher nicht feststellen. Ebenso wie im Bakterium das Agglutinogen in ein Agglutinoid (Bakterienagglutinoid) übergeht, können auch Präzipitinogene eine Umwandlung in Präzipitoide erfahren. In solchen Filtraten entstehen auf Zusatz von Immuns Serum keine Niederschläge, wohl aber können dieselben für Agglutinin und Präzipitin ihre spezifische Bindungsfähigkeit behalten haben. Was die Beziehung der Agglutinogene-Präzipitinogene zur Erzeugung von Agglutininen, Präzipitinen betrifft, so wissen wir jetzt, daß sowohl Agglutinogen (Bakterien) als auch Präzipitinogen (Filtrate) beide Immunkörper im Organismus hervorzurufen im stande sind. Die antigene Eigenschaft des Agglutinogens, Präzipitinogens hängt nicht von der Koagulabilität dieser Körper ab. Immunisiert man beispielsweise mit einem Präzipitoid α („typisches“ Kochsalzagarfiltrat, auf 62° erwärmt), so enthält das Immuns Serum sowohl Agglutinin a und b als auch Präzipitin a und b.

All das Gesagte gilt nur für die Bakterienagglutinogene, -präzipitinogene, -agglutinine, -präzipitine. Für die Präzipitine und Agglutinine des Ricins dürfte man nach unseren früheren Versuchen eine Identität ebenfalls annehmen.

Diese Identität der Agglutinine und Präzipitine führte uns dazu, die von Paltauf aufgestellte Theorie der Agglutination zu vertreten und auszubauen. Durch den von Löwit (19) erbrachten Nachweis, daß an den agglutinierten Bakterien sich die Präzipitate mittels eigener Färbungen nachweisen lassen, hat diese Theorie ihren vollständigen Aufbau erfahren. Die Eiweißpräzipitine der Sera sind von den Agglutininen der Blutkörperchen vollständig zu trennen, als Körper sui generis.

Literatur.

- 1) Kraus, Wien. klin. Wochenschr. 1897. 1901; Zeitschr. f. Heilk. 1902.
- 2) Kraus u. v. Pirquet, Centralbl. f. Bakt. 1902.
- 3) Bail, Arch. f. Hyg. 1902.
- 4) Radziewsky, Zeitschr. f. Hyg. 1902.
- 5) Pick, E. P., Hofmeisters Beiträge z. chem. Phys. u. Path. 1902.
- 6) Joos, Centralbl. f. Bakt. 1903.
- 7) Paltauf, Dtsche med. Wochenschr. 1903.
- 8) Wassermann, Zeitschr. f. Hyg. 1903.
- 9) Lipschütz, Centralbl. f. Bakt. 1904.
- 10) Levy u. Bruns, Berl. klin. Wochenschr. 1897.
- 11) Winterberg, Zeitschr. f. Hyg. 1899.
- 12) Eisenberg u. Volk, Zeitschr. f. Hyg. 1902.
- 13) Schwoner, Wien. klin. Wochenschr. 1902.
- 14) Müller, Münch. med. Wochenschr. 1903.
- 15) Castellani, The Lancet. 1902.
- 16) Brieger u. Schütze, Dtsche med. Wochenschr. 1902.
- 17) Brieger u. Mayer, Dtsche med. Wochenschr. 1903.
- 18) Volk u. de Waele, Wien. klin. Wochenschr. 1902.
- 19) Löwit, Centralbl. f. Bakt. 1903.

Nachdruck verboten.

Ueber eine die Blutgerinnung hemmende Substanz in *Anchylostoma caninum*.

[Aus dem pathologischen Laboratorium der University of Pennsylvania, Philadelphia.]

Von **Leo Loeb** und **A. J. Smith**.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß eine der wesentlichsten Folgen einer *Anchylostoma*-Infektion in einer schweren Anämie besteht. Mehrere Umstände werden von verschiedenen Autoren für diese Anämie verantwortlich gemacht, wie z. B. eine hämolytische oder sonstwie toxische Wirkung der Sekrete dieses Parasiten, oder die durch die vielfachen intestinalen Ulcerationen begünstigte Resorption toxischer Substanzen vom Intestinaltrakt. Ohne die Möglichkeit zu bestreiten, daß diese Faktoren, für deren Bedeutung ein direkter Beweis bisher nicht erbracht wurde, von Wichtigkeit sein mögen, so dürfte doch der häufige Verlust kleiner Blutmengen infolge der Bisse des Wurmes nicht ohne Einfluß auf die vielleicht durch andere Umstände mit bedingte Anämie sein, insbesondere da, wie bekannt, die *Anchylostomen* häufig ihren Ort innerhalb des Darmes wechseln und daher die Zahl der Bißstellen oft viel größer ist wie die Zahl der Würmer, und da ferner Nachblutungen aus den Bißstellen häufig beobachtet werden. Solche Nachblutungen treten nun bekanntlich nach Bissen von Blutegeln auf, in denen Haycraft¹⁾ eine die Gerinnung des Blutes hemmende Substanz nachgewiesen hat. Es lag daher nahe, eine solche Substanz auch in *Anchylostoma* zu vermuten. Der Nachweis ihrer Existenz ist aber unseres Wissens bisher nicht erbracht worden. Eine Substanz, welche die Gerinnung des Blutes verhindert und dadurch die Nachblutungen begünstigt,

1) Haycraft, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. XVIII. 1884.

würde aber besonders dann in Betracht kommen, falls, wie Looss¹⁾ angibt, Darmschleimhaut und nicht Blut die eigentliche Nahrung des Parasiten bildet. Es würde dann der Blutverlust größtenteils oder ganz durch die durch den Biß verursachte Blutung bedingt sein und nicht oder nur in geringerem Grade durch das Blutsaugen des Parasiten. Wir beschlossen daher durch Versuche festzustellen²⁾, ob im *Anchylostomum* eine die Blutgerinnung in vitro hemmende Substanz nachgewiesen werden kann. Wegen Mangel an Material konnten wir hierzu das beim Menschen parasitierende *Anchylostoma duodenale* nicht verwenden. Wir benutzten daher das in Philadelphia häufig in Hunden gefundene *Anchylostoma caninum*. Dies bot auch den Vorteil, daß der Parasit aus dem noch lebenden Hunde durch Operation gewonnen werden kann.

Die Versuche wurden in der folgenden Weise angestellt: Die dem Darms des in Narkose befindlichen Hundes entnommenen Anchylostomen wurden in ein Schälchen mit 0,85-proz. NaCl-Lösung gebracht. Um sie von etwa anhaftendem Darminhalt zu befreien, wurden sie sodann abgespült und in eine zweite Schale mit Kochsalzlösung übertragen. Darauf wurden sie in einem kleinen Mörser unter Zusatz von etwas Glaspulver und einer abgemessenen Menge einer 0,85-proz. NaCl-Lösung zerstoßen. Sodann wurden sie behufs Extraktion der wirksamen Substanzen mehrere Stunden oder über Nacht in den Eisschrank gestellt. Je 1 ccm des Extraktes wurde hierauf in ein Reagenzglas gebracht; in andere Röhrchen wurde die gleiche Menge 0,85-proz. NaCl-Lösung als Kontrolle eingeführt. Einem Hunde wurde hierauf aus der Femoralarterie mittelst einer Kanüle Blut entzogen, und dasselbe wurde direkt in den Reagenzröhrchen aufgefangen. Meist wurde etwa 1 ccm, zuweilen auch 2 ccm Blut zu 1 ccm Extrakt oder zu der NaCl-Lösung zugefügt. NaCl-Lösung oder Extrakt wurden sofort mit dem Blute gut gemischt, und es wurde sodann der Zeitpunkt der beginnenden und der vollendeten Koagulation bestimmt.

In 4 Hunden fanden wir eine größere Anzahl von Anchylostomen, die zu Versuchen genügend erschien. In einem Falle fanden wir 135, in einem zweiten 100, in einem dritten 27 und in einem vierten Falle 85 Würmer. Der 3. Versuch, in dem uns nur 27 Anchylostomen zur Verfügung standen, gab kein deutliches Resultat; die Zahl der benutzten Würmer war wahrscheinlich nicht genügend oder die Tiere hatten zu lange gestanden, ehe der Versuch angestellt wurde. In den anderen 3 Versuchen erhielten wir aber eindeutige Resultate. In den Kontrollröhrchen, die die NaCl-Lösung enthielten, koagulierte das Blut innerhalb der ersten 9 Minuten, in den Extrakt Röhrchen trat Koagulation erst nach mehreren Stunden oder sogar erst nach 24 Stunden oder später ein. Im einzelnen sind die Ergebnisse der Versuche die folgenden:

1. Versuch: 135 Anchylostomen wurden mit 8 ccm einer 0,85-proz. NaCl-Lösung nach vorherigem Zerreiben etwa 6 Stunden im Eisschrank unter mehrmaligem Umrühren extrahiert.

1) Looss, A., Zum Bau des erwachsenen *Anchylostomum duodenale*. (Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Bd. XXXV. 1904. No. 6. März.)

2) Diese Versuche wurden dem einen von uns durch frühere und gleichzeitige Untersuchungen über die Blutgerinnung hemmende und begünstigende Faktoren nahegelegt (vergl. Loeb, L., Virch. Arch. Bd. CLXXIII; Hofmeisters Beiträge. Bd. V.), dem anderen durch Untersuchungen über *Uncinaria americana* (vergl. A. J. Smith, Uncinariasis in Texas. — Amer. Journ. med. sciences. 1903. Oct.).

1 ccm Extrakt + 2 ccm Hundeblut: Koagulation beginnt nach 25 Minuten, ist vollständig nach 1 Stunde 40 Minuten.

1 ccm Extrakt + 1 ccm Hundeblut: noch nach 6 Stunden flüssig, koaguliert in der folgenden Nacht.

3 Kontrollröhrchen mit 1 resp. 2 ccm Blut koagulierten vollständig innerhalb 2—4 Minuten.

2. Versuch: 100 *Anchylostomen* werden in der Mitte durchschnitten und die vorderen und hinteren Hälften unter Zusatz von je 4 ccm einer 85-proz. NaCl-Lösung 18 Stunden lang gesondert extrahiert.

1 ccm Extrakt der hinteren Hälften + $3\frac{1}{2}$ ccm Hundeblut: nach 20 Minuten teilweise Koagulation, nach 27 Minuten ganz koaguliert.

1 ccm Extrakt der hinteren Hälften + 1 ccm Hundeblut: nach 22 Minuten beginnende Koagulation, nach 30 Minuten ganz koaguliert.

2 Röhrchen mit je 1 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung + 1 ccm Hundeblut: nach 8—10 Minuten koaguliert.

1 ccm Extrakt der vorderen Hälften + 1 ccm Hundeblut: nach 24 Stunden noch flüssig.

1 ccm Extrakt der vorderen Hälften + 1 ccm Hundeblut: bis 24 Stunden unkoaguliert, dann bildet sich ein sehr kleines Koagulum.

Es wurden je 1 ccm des Extraktes der vorderen und hinteren Hälften 15 Minuten in kochendes Wasser gehalten:

1 ccm gekochtes Extrakt der hinteren Hälfte + 1 ccm Hundeblut: Koagulation beginnt nach 12 Minuten; nach 15 Minuten ganz koaguliert.

1 ccm gekochtes Extrakt der vorderen Hälfte + 1 ccm Hundeblut: nach 2 Stunden teilweise koaguliert. Nach Umschütteln koaguliert das Gemisch in wenigen Minuten.

Wir sehen also aus diesen beiden Versuchen, daß bei Zusatz einer gleichen Menge Blut zum Extrakt die Gerinnungshemmung sehr stark ist, daß sie aber auch noch recht deutlich ist bei Zusatz einer größeren Menge Blutes; ferner daß die vordere Körperhälfte des Tieres die gerinnungshemmende Substanz der Hauptsache nach enthält, und daß die hintere Körperhälfte nur eine ganz geringe Wirkung zeigt. Kochen zerstört die Substanz nicht ganz, aber schwächt die gerinnungshemmende Wirkung wesentlich ab.

3. Versuch: Hierzu konnten nur 37 Exemplare benutzt werden. Dieselben wurden in der Mitte durchschnitten und mit je 2 ccm einer 0,85-proz. NaCl-Lösung die vorderen und hinteren Hälften extrahiert. In diesem Falle blieben die Tiere 4 Stunden im warmen Zimmer zerschnitten stehen, bevor sie zur Extraktion auf Eis gestellt wurden. Hier war kein oder nur ein sehr geringer Unterschied zwischen der Wirkung des Extraktes und einer 0,85-proz. NaCl-Lösung vorhanden.

4. Versuch: Extrakte der vorderen und hinteren Körperhälften von 85 *Anchylostomen* werden unter Zusatz von je 3 ccm einer 0,85-proz. NaCl-Lösung bereitet. Es wird während $1\frac{1}{2}$ Stunde im Eisschrank extrahiert. Gleichzeitig wird ein Extrakt einer Tänie des Hundes (wahrscheinlich *T. cucumerina*) hergestellt.

1 ccm der vorderen Hälften + 1 ccm Hundeblut: noch nicht koaguliert nach 18 Stunden.

2 Proben von je 1 ccm Extrakt der hinteren Hälfte + 1 ccm Hundeblut: beide koaguliert nach 5 Minuten.

1 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung + 1 ccm Blut: koaguliert nach 8 Minuten.

1 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung + 2 ccm Blut: koaguliert nach 7 Minuten.

1 ccm Tānieextrakt + 2 ccm Blut: koaguliert in weniger als 5 Minuten.

Wir sehen hier, daß während der Extrakt der vorderen Körperhälften sehr stark die Gerinnung hemmt, der der hinteren Körperhälften die Gerinnung eher beschleunigt; ebenso beschleunigt der Extrakt der Tānie die Gerinnung.

Es wurde dann noch ein weiterer Kontrollversuch mit *Ascaris mystax* angestellt. 4 Exemplare von *Ascaris* wurden unter Zusatz von Glasstaub zerstoßen und mit 10 ccm einer 0,85-proz. NaCl-Lösung während mehrerer Stunden unter mehrmaligem Umschütteln auf Eis extrahiert. In 5 Reagenzröhrchen wurde je 1 ccm Extrakt und in 3 Kontrollröhrchen je 1 ccm einer 0,85-proz. NaCl-Lösung eingeführt und je 1 ccm frischen Hundesblutes in jedes Röhrchen einfließen lassen. Während in der NaCl-Lösung Gerinnung in 9 Minuten eintrat, fand in den Extrakt Röhrchen Gerinnung in $\frac{3}{4}$ Minute statt. *Ascaris* bewirkte also im Gegensatz zu *Anchylostoma* eine starke Gerinnungsbeschleunigung, da die Gewebe dieses Wurmes Gewebskoaguline (zymoplastische Substanz von Alex. Schmidt, Thrombokinasen von Morawitz) enthält.

Aus diesen Versuchen ergibt sich also, daß *Anchylostoma caninum* eine die Blutgerinnung des Hundes stark hemmende Substanz enthält. Bei der großen Ähnlichkeit im Bau und in der Lebensweise, welche zwischen dem *Anchylostoma* des Hundes und denen des Menschen besteht, können wir mit großer Wahrscheinlichkeit annehmen, daß im *Anchylostoma duodenale* und *americanum* eine ähnliche Substanz vorhanden ist. Wir sehen auf der anderen Seite, daß dieselbe in den nicht blutsaugenden *Ascaris* und *Taenia* nicht nachweisbar ist. Nun fanden L. Cannes und P. Lequeux¹⁾ eine die Blutkoagulation hemmende Wirkung in wässerigen Extrakten von *Lumbricus*. Sie fanden diese Wirkung aber nur nach Injektion des Extraktes in das Tier, nicht aber, wenn in vitro Blut und Extrakt gemischt wurden. Diese Autoren nehmen daher selbst mit Recht an, daß sie es hier mit einer von der im Blutgeleextrakt vorhandenen verschiedenen Substanz zu tun haben. Extrakte von Regenwürmern enthalten Substanzen, die ähnlich wie Wittes Pepton wirken. Wohl aber fand Sabbatani²⁾ in *Ixodes ricinus* eine Substanz, die ganz analog dem Blutextrakt wirkt. Nun ist *Ixodes* ebenfalls ein blutsaugender Parasit, bei dem daher das Vorhandensein einer solchen Substanz zu erwarten ist. Vielleicht dürfte die Tatsache, daß wir in *Anchylostoma* eine ähnliche Substanz finden, dahin gedeutet werden, daß doch auch *Anchylostoma* ein Blutsauger ist, womit auch die Tatsache übereinstimmt, daß man nicht selten Blut im Darm dieser Nematoden findet.

Wenn wir die geringe Menge Substanz in Berücksichtigung ziehen, die uns zu diesen Versuchen zu Gebote stand, so ist die gerinnungshemmende Wirkung, die wir hier beobachteten, als eine recht kräftige zu betrachten. Von einer Prüfung der Wirkung des Extraktes auf die Gerinnung nach intravenöser Injektion wurde jedoch abgesehen, da hierzu die Zahl der Anchylostomen nicht genügend war. Nach Lutz (Volkmanns Sammlung von Vorträgen) wiegen 500 Anchylostomen 2 g. Im

1) Cannes, L. et Lequeux, P., Compt. rend. de la soc. de biol. T. LII.

2) Sabbatani, Ferment anticoagulant de l'*Ixodes ricinus*. (Arch. ital. de biol. XXXI. 1899.)

besten Falle standen uns 135 Exemplare zur Verfügung, also etwas mehr als ein halbes Gramm.

Um bei intravenöser Injektion eine genügende Wirkung zu erhalten, braucht man ungefähr 3 Köpfe Blutegel pro Kilo Hund; Sabbatani fand hierfür 1 g *Ixodes* pro Kilo Hund nötig. In diesen beiden Fällen sind also für intravenöse Injektion bedeutend größere Mengen nötig als sie uns zur Verfügung standen.

Während der die Gerinnung hindernde Stoff im Blutegelsextrakt durch Kochen nicht zerstört, aber geschwächt wird¹⁾, gibt Sabbatani²⁾ an, daß die in *Ixodes* vorhandene Substanz durch 10 Minuten langes Kochen zerstört wird. Wir fanden, daß die wirksame Substanz von *Anchylostoma* durch Kochen merklich abgeschwächt, aber nicht ganz zerstört wird, daß dieselbe sich also wie Hirudin verhält. Wir haben jedoch hierbei die Möglichkeit zu berücksichtigen, daß diese Abschwächung ganz oder teilweise nur eine scheinbare ist, indem die durch das Kochen koagulierten, im Extrakt befindlichen Eiweißstoffe die wirksame Substanz mit niederreißen und einhüllen.

Wie im Blutegel, so ist auch im *Anchylostoma* die gerinnungshemmende Substanz wenigstens in ihrer bei weitem größten Menge in der vorderen Körperhälfte vorhanden. Doch fanden wir in einem Versuch auch eine schwache Wirksamkeit der hinteren Körperhälfte. Diese Tatsache, die in ähnlicher Weise auch beim Blutegel beobachtet wurde, dürfte wahrscheinlich so zu erklären sein, daß in dem den Darm erfüllenden Blute eine geringe Menge dieser Substanz noch in wirksamem Zustand vorhanden war.

Im Blutegel wird die gerinnungshemmende Substanz in den einzelligen Halsdrüsen bereit. In *Anchylostoma* müssen wir nach Looss³⁾ dreierlei Drüsen, die Kopf-, Oesophagus- und Halsdrüsen unterscheiden. Da die Halsdrüsen in das Exkretionssystem des Tieres münden, so ist es sehr unwahrscheinlich, daß sie diese Substanz produzieren. Es kämen also nur die Oesophagusdrüsen oder die Kopfdrüsen in Betracht⁴⁾.

In der Extrakt-Blutmischung, in der das Blut für längere Zeit ungeronnen bleibt, sieht man die roten Blutkörperchen wohl erhalten. Nach 6 Stunden sind dieselben unter dem Mikroskop ohne stärkere Veränderungen. Obwohl keine Gerinnung stattfand, sind die Blutplättchen nichtsdestoweniger in Häufchen agglutiniert. Nach 17 Stunden langem Stehen bei Zimmertemperatur war die überstehende Flüssigkeit klar und ließ keine irgendwie bemerkenswerte Hämolyse erkennen.

Wenn demnach eine bedeutendere hämolytische Wirkung, wie sie Schaumann und Tallquist⁵⁾ für die *Bothriocephalus*-Anämie verantwortlich machen, wenigstens in vitro für *Anchylostoma* nicht nachweisbar

1) Haycraft (loc. cit.) gibt an, daß Kochen die wirksame Substanz des Blutegelsextraktes nicht schädigt, während Franz (Ueber den die Blutgerinnung aufhebenden Bestandteil des medizinischen Blutegels — Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. Bd. XLIX. 1903.) eine Herabminderung der Wirksamkeit durch Kochen fand. Die Beobachtungen von Franz stimmen mit den unserigen bei *Anchylostoma* überein.

2) loc. cit.

3) loc. cit.

4) Looss betrachtet die Kopfdrüsen als die Stelle, wo die toxischen Substanzen bereit werden. Smith (loc. cit.) nahm vor Erscheinen der Looss'schen Arbeit an, daß die Oesophagealdrüsen hierfür in Betracht kommen.

5) Schaumann, O. und Tallquist, T. W., Ueber die Blutkörperchen auflösenden Eigenschaften des breiten Bandwurmes. (Deutsche med. Wochenschrift. Bd. XXVII. 1898.)

ist, dürfte auf der anderen Seite die hier in *Anchylostoma* nachgewiesene gerinnungshemmende Substanz für die durch diesen Parasiten verursachte Anämie nicht ohne Belang sein, insbesondere wenn die häufige Ortsveränderung dieser Tiere in Betracht gezogen wird. Die Bedeutung dieser gerinnungshemmenden Wirkung der *Anchylostoma* ist um so größer, weil, wie der eine von uns (L. Loeb) gefunden hat¹⁾, die Darmschleimhaut und der dieselbe bedeckende Schleim einen die Blutgerinnung stark beschleunigenden Einfluß ausüben. Ohne eine solche dem Darmschleime entgegenwirkende Substanz, wie die in *Anchylostoma* nachgewiesene, würde wahrscheinlich ein Biß des Wurmes überhaupt nicht eine Nachblutung zur Folge haben.

Zusammenfassung: In der vorderen Körperhälfte von *Anchylostoma* ist eine die Blutgerinnung stark hemmende Substanz vorhanden, die ähnlich wie das Hirudin in vitro wirkt; dieselbe wird durch Kochen nicht ganz zerstört. Eine hämolytische Wirkung des *Anchylostoma*-Extraktes läßt sich nicht nachweisen. Wahrscheinlich ist die die Gerinnung hemmende Substanz von Bedeutung für die bei *Anchylostoma*-Infektion häufig beobachtete Anämie.

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss der Temperatur auf die spezifische und nicht spezifische Agglutination.

[Aus dem hygienischen Institut der deutschen Universität Prag
(Vorstand Prof. Hueppe).]

Von Dr. Edmund Well.

(Schluß.)

Die erhitzten Bakterien haben jedoch die gesamte agglutinierende Substanz gebunden, denn die von den Bakterien durch Zentrifugieren befreite Flüssigkeit zeigt keine agglutinierenden Eigenschaften mehr. Es gelingt überhaupt nicht, die Bakterienleiber unfähig zu machen, das Agglutinin zu absorbieren. Eisenberg und Volk setzten sie den höchsten Temperaturen aus, überließen sie der Einwirkung der eingreifendsten chemischen Agentien. Kirstein hat sie auf mechanische Weise zu beeinflussen gesucht, indem er sie trocknete und zerreiben ließ, so daß nur Fragmente übrig blieben, und diese Bakterientrümmern absorbierten immer noch. Es ist also leicht erklärlich, daß die Erhitzung auf 80° die Bindungsfähigkeit der Bakterien nicht im geringsten beeinträchtigt hat. Fast ebenso unmöglich wie die Bindung zu verhindern, ist es das gebundene Agglutinin von den Bakterien loszureißen. Nur Hahn und Tromsdorff geben an, daß es ihnen gelingt, durch Digerieren mit 1:100 Natronlauge und 1:100 Normalschwefelsäure das an die Bakterien — Typhusbacillen und Choleravibrionen — gebundene Agglutinin wieder zu trennen.

Auf eine Erscheinung möge noch hingewiesen werden, die im Verlaufe dieser Untersuchungen auftrat. Es wurde stets bei allen diesen Versuchen die Bouillonkultur verwendet, weil sich da die einzelnen

1) Hierüber soll an anderer Stelle berichtet werden.

Phasen der Agglutination genauer und schärfer beobachten ließen. Wurden jedoch Agarröhrchen in Kochsalzlösung abgeschwemmt oder

Tabelle VII.

Agarbakterien in Kochsalzabschwemmung				
	15 Minuten	30 Minuten	1 Stunde	2 Stunden
bei 37°				
1 : 200	größere Flocken	Bodensatz mit trüber überstehender Flüssigkeit	Bodensatz mit trüber überstehender Flüssigkeit	Bodensatz mit leicht trüber überstehender Flüssigkeit
1 : 1200	idem	grobe Flocken	idem	Bodensatz mit trüber überstehender Flüssigkeit
1 : 3000	feinste Flöckchen	größere Flocken	beginnende Bodensatzbildung	idem
1 : 6000	Wogen	kleine Flöckchen	größere Flocken	beginnende Bodensatzbildung
1 : 12 000	trübe	trübe	Wogen	kleine Flöckchen

Agarbakterien in destilliertem Wasser abgeschwemmt				
	15 Minuten	30 Minuten	1 Stunde	2 Stunden
bei 37°				
1 : 200	grobe Flocken	Bodensatz mit trüber überstehender Flüssigkeit	Bodensatz mit trüber überstehender Flüssigkeit	Bodensatz mit leicht trüber überstehender Flüssigkeit
1 : 1200	größere Flocken	grobe Flocken	idem	Bodensatz mit trüber überstehender Flüssigkeit
1 : 3000	kleine Flöckchen	idem	beginnende Bodensatzbildung	idem
1 : 6000	idem	kleine Flöckchen	größere Flocken	beginnende Bodensatzbildung
1 : 12 000	trübe	trübe	Wogen	kleine Flöckchen

Bouillonbakterien				
	15 Minuten	30 Minuten	1 Stunde	2 Stunden
bei 37°				
1 : 200	größere Flöckchen	grobe Flocken	beginnende Bodensatzbildung	Bodensatz mit trüber überstehender Flüssigkeit
1 : 1200	trübe	feinste Flöckchen	größere Flöckchen	beginnende Bodensatzbildung
1 : 3000	idem	Wogen	feinste Flöckchen	kleine Flöckchen
1 : 6000	idem	idem	idem	idem
1 : 12 000	idem	trübe	Wogen	feinste Flöckchen

nach den Angaben von Kolle und Otto ein Teil der Kultur mit der Oese an den Rand des Röhrchens in der Flüssigkeit verrieben, wodurch man ebenfalls eine vollständig gleichmäßig getrübtte Flüssigkeit erlangt, so trat die Agglutination schneller ein als in der Bouillonkultur. Man könnte geneigt sein, dieses Verhältnis mit den Untersuchungen von Joos in Einklang zu bringen, da doch ein gewisser Ueberschuß von Salz vorhanden ist — es wurde nämlich 0,9-proz. Kochsalzlösung verwendet. Die schnellere Agglutination trat jedoch auch ein, wenn man, wie die folgende Tabelle zeigt, die Agarröhrchen mit destilliertem Wasser abschwemmt, wo also nur die Salzmenge vorhanden war, die die Bakterien vom Nährboden mitgebracht hatten und die in der Serumverdünnung vorhanden war (s. Tabelle VII).

Woran die schnellere Agglutination in der Abschwemmung mit Kochsalzlösung und destilliertem Wasser liegt, mußte sich feststellen lassen, wenn man einerseits die Agarbakterien in gewöhnliche Nährbouillon, dann in der von den Typhusbacillen durch Zentrifugieren befreiten Bouillon, die hier Typhusbouillon genannt ist, abschwemmt, andererseits die abzentrifugierten Bouillonbakterien in gewöhnliche Nährbouillon, dann in Kochsalzlösung und schließlich in destilliertem Wasser aufschwemmt. Die Versuchsanordnung ist nach der Richtung zusammengestellt in der

Tabelle VIII.
Serumverdünnung 1:3000.

	15 Minuten	30 Minuten	1 Stunde	2 Stunden
	bei 37°			
Bouillonbakterien abzentrifugiert und in Nährbouillon aufgeschwemmt	trübe	allerfeinste Flöckchen	kleine Flöckchen	größere Flöckchen
Agarbakterien in Nährbouillon abgeschwemmt	feinste Flöckchen	größere Flocken	beginnende Bodensatzbildung	Bodensatz mit trüber überstehender Flüssigkeit
Bouillonbakt. abzentrifugiert u. in Kochsalzlösung aufgeschwemmt	trübe	Wogen	kleine Flöckchen	größere Flöckchen
Agarbakterien in Kochsalzlösung abgeschwemmt	kleine Flöckchen	größere Flocken	beginnende Bodensatzbildung	Bodensatz mit trüber überstehender Flüssigkeit
Bouillonbakt. abzentrifugiert u. in Aqua destillata aufgeschwemmt	trübe	feinste Flöckchen	kleine Flöckchen	größere Flöckchen
Agarbakt. in Aqua destillata abgeschwemmt	kleine Flöckchen	größere Flocken	beginnende Bodensatzbildung	Bodensatz mit leicht trüber überstehender Flüssigkeit
Bouillonbakterien	trübe	Wogen	kleinste Flöckchen	kleine Flöckchen
Agarbakterien in Typhusbouillon abgeschwemmt	kleine Flöckchen	größere Flocken	beginnende Bodensatzbildung	Bodensatz mit trüber überstehender Flüssigkeit

Es zeigt dieser Versuch, daß stets die von Agar abgeschwemmten Bakterien, ob in Kochsalzlösung, in destilliertem Wasser oder in Typhusbouillon, die beschleunigte, während die Bouillonbakterien in jeder Aufschwemmung die trägere Agglutination zeigten. Eine höhere Agglutinierbarkeit der Agarbakterien gegenüber den Bouillonbakterien konnte jedoch nicht konstatiert werden, wie dies Zelenski bei den von Agar in physiologische Kochsalzlösung abgeschwemmten Streptokokken gegenüber den in der Bouillon gewachsenen festgestellt hat. Er stellt sich vor, daß das Kochsalz in der Bouillon als anderes Medium anders wirke als in der physiologischen Lösung. Eine genauere Erklärung gibt er nicht, er hält die Kochsalzlösung für das feinere Reagens gegenüber der Bouillon.

Daß die auf Agar gezüchteten Typhusbacillen schneller agglutiniert werden als die in der Bouillonkultur, hat nichts sonderliches an sich, da man weiß, daß die verschiedenen Nährböden die Agglutinierbarkeit der Bakterien verschieden beeinflussen; wie dies in letzter Zeit auch Kirstein festgestellt hat. Eigene Versuche der Art wurden im vorigen Jahre angestellt. Es wurden *Vibrio Elvers* und Typhusbacillen an menschliche Ascitesflüssigkeit angepaßt und durch 10 Generationen darauf gezüchtet; hierauf wurde Ascites *Elvers* 1:750, Agar *Elvers* 1:2000, Ascites-Typhus 1:10000, Bouillon-Typhus 1:5000 agglutiniert. Das Verhältnis der Agglutinierbarkeit von Ascitesbakterien und Agarbakterien beziehungsweise Bouillonbakterien blieb stets dasselbe, trotzdem mehrere Sera geprüft wurden. Diese Versuche wurden aufgegeben, weil sie kein eindeutiges Resultat lieferten, denn in einer Ascitesflüssigkeit, die von einem anderen Individuum stammte, zeigte sich in Bezug auf die Agglutinierbarkeit gerade das entgegengesetzte Verhalten. Es ist offenbar die Ascitesflüssigkeit nicht von einheitlicher Zusammensetzung, indem sie das eine Mal als Produkt einer Stauung durch einen Herzfehler ein reines Stauungsexudat ist, das andere Mal bei Lebercirrhose als Zirkulationsstörung im Pfortaderkreislaufe mehr oder weniger Gallenbestandteile etc. enthalten kann, die das Wachstum und die Agglutinierbarkeit der Bakterien nach der einen oder anderen Richtung hin beeinflussen können. Jedenfalls zeigten auch diese Versuche die verschiedene Agglutinierbarkeit der Bakterien bei Wachstum auf verschiedenen Nährböden.

Es ist also auch hier nicht unwahrscheinlich, daß schnellere Agglutinierbarkeit der Agarbakterien von dem Wachstum auf dem Nährboden abhängig ist. Daß eine höhere Agglutinierbarkeit nicht eintritt, ist ebenfalls verständlich, da die Wachstumsbedingungen und Nährsubstanzen sowohl auf Agar wie in der Bouillon für die Typhusbacillen nicht wesentlich verschieden sind.

Von den Vibrionen wurde Cholera Pfeiffer ebenfalls nach der Richtung hin untersucht. Auch hier konnte die Bouillonkultur verwendet werden, weil dieser Stamm durch das lange Fortzüchten im Laboratorium seine Fähigkeit, ein Oberflächenhäutchen zu bilden, verloren hatte, sondern die Bouillon gleichmäßig trübend wuchs. Das Kaninchen, von dem das agglutinierende Serum stammte, bekam folgende intravenöse Injektionen:

16. März	$\frac{1}{10}$	Agar-Agarkultur	1	Stunde auf	60°
19. "	$\frac{1}{4}$	"	1	"	60°
22. "	$\frac{1}{2}$	"	1	"	60°.

29. März Blutentnahme aus der Jugularis externa.

Die Agglutinationsprüfung wurde bei 37° und 55° vorgenommen. Das Resultat derselben ist aus der Tabelle IX zu ersehen.

Tabelle IX.

Bei Brutschranktemperatur 37°				
	15 Minuten	30 Minuten	1 Stunde	2 Stunden
1 : 30	trübe	feinste Flöckchen	kleine Flöckchen	beginnende Bodensatzbildung
1 : 60	idem	Wogen	feinste Flöckchen	größere Flöckchen
1 : 100	idem	idem	idem	kleine Flöckchen
1 : 200	idem	idem	idem	idem
1 : 300	idem	idem	idem	idem
1 : 600	idem	idem	idem	idem
1 : 1200	idem	trübe	idem	feinste Flöckchen
1 : 2500	idem	idem	trübe	trübe

zwischen 50° und 55°				
	15 Minuten	30 Minuten	1 Stunde	2 Stunden
1 : 30	feinste Flöckchen	größere Flöckchen	beginnende Bodensatzbildung	Bodensatz mit klarer überstehender Bouillon
1 : 60	idem	idem	idem	idem
1 : 100	idem	idem	idem	idem
1 : 200	idem	idem	idem	idem
1 : 300	Wogen	kleine Flöckchen	grobe Flocken	Bodensatz mit leicht trüber überstehender Bouillon
1 : 600	trübe	idem	kleine Flöckchen	Bodensatz mit trüber überstehender Bouillon
1 : 1200	idem	Wogen	feinste Flöckchen	kleine Flöckchen
1 : 2500	idem	trübe	trübe	Wogen

Für den Verlauf der Schnelligkeit der Agglutinationsreaktion ist also hier gleichfalls die Temperatur von 55° die günstigere, es gibt also auch für die Choleravibrionen dasselbe wie für die Typhusbacillen. Es läßt sich jedoch durch Vorerwärmung dieser Bakterien im Gegensatz zu Typhus kein günstiger Einfluß auf den schnelleren Verlauf der Agglutinationsreaktion erzielen, indem keine Differenzen gegenüber den nicht vorerwärmten Bakterien zu Tage treten.

Auch dies stützt die Ansicht, daß die schnellere Agglutinierbarkeit der Choleravibrionen ebenso wie bei den Typhusbacillen als eine bei höherer Temperatur schneller verlaufende Reaktion anzusehen ist.

Um die Entagglutination vorzunehmen, wurde der Versuch genau wie im vorangehenden angestellt, ebenfalls durch 5 Minuten auf 80° erhitzt, nach welcher Zeit die gelöste Agglutination nicht wieder eintrat (s. Tabelle X).

Das Eintreten der Desagglutination hat hier jedoch einen anderen Grund als bei den Typhusbacillen. Während die agglutinierbare Substanz dieser durch das 5 Minuten lange Erhitzen auf 80° zerstört wird,

Tabelle X.

	1:30	1:200	1:600	1:1200
Bakterien auf 80° erhitzt + Serum	grobe Flocken	grobe Flocken	feine Flocken	feinste Flöckchen
Bakterien + Serum auf 80° erhitzt	trübe	trübe	trübe	trübe
Bakterien auf 80° erhitzt + Serum auf 80° erhitzt	idem	idem	idem	idem
Bakterien + Serum auf 80° erhitzt	idem	idem	idem	idem

bleibt sie bei den Cholera-vibrionen intakt, denn die erhitzten Bakterien werden, wie die vorangehende Tabelle zeigt, vom nicht erhitzten Serum agglutiniert; hingegen wird das Serum bei dieser Temperatur inaktiviert, denn es agglutiniert weder die erhitzten, noch die nicht erhitzten Bakterien. Die agglutinierbare Substanz der Cholera-vibrionen ist eben im Gegensatz zu der der Typhusbacillen sehr resistent gegen die Einwirkung der Hitze. Selbst durch 3 Stunden langes Erhitzen derselben im strömenden Dampf konnte normale Agglutinierbarkeit erzielt werden; die Hitzebeständigkeit des Choleraserums ist jedoch eine geringere als die des Typhusserums. Die Entagglutination kommt also bei den Cholera-vibrionen dadurch zu stande, daß das Serum unwirksam wird, es sonach selbst auf die intakte agglutinierbare Bakterien-substanz nicht einwirken kann.

Der Nachweis, daß die Bindung des Agglutinins durch die Entagglutination nicht aufgehoben wurde, konnte nicht auf die Weise erbracht werden, wie bei den Typhusbacillen, weil hier die von den Bakterien durch Zentrifugieren befreite Flüssigkeit schon deshalb keine agglutinierenden Eigenschaften zeigen konnte, weil das Choleraserum durch diese Temperatur bereits unwirksam wurde. Wie wir nach den Untersuchungen von Bail wissen, sind Bakterien, die mit starken Konzentrationen von inaktiviertem Serum besetzt sind, inggalutinabel. Dieser Fall lag auch in unserem Versuche vor. Die abzentrifugierten entagglutinierten Bakterien konnten durch Zugabe frischen Serums nicht mehr agglutiniert werden, ein Beweis dafür, daß die Cholera-vibrionen das Agglutinin gebunden behielten trotz der Erhitzung.

Behufs Untersuchung der Kokkenagglutination wurde ein Kaninchen durch intravenöse Injektionen von Staphylokokken, die durch 1-stündiges Erwärmen auf 60° abgetötet waren, folgendermaßen behandelt:

16. März $\frac{1}{2}$ Oese einer Agarkultur

22. " 1 " " "

28. " 3 Oesen " "

1. April $\frac{1}{4}$ Agarkultur

11. " $\frac{1}{2}$ " "

18. April Blutentnahme aus der Jugularis externa.

Bei nachträglicher Virulenzprüfung stellte sich heraus, daß dieser Stamm auch im lebenden Zustande für Kaninchen vollständig indifferent war.

Die Agglutinationsprüfung wurde bei 37° und 55° vorgenommen (s. Tabelle XI).

Also auch hier tritt die Agglutination bei 55° beschleunigt auf.

Tabelle XI.

bei Brutschranktemperatur 37°				
	15 Minuten	30 Minuten	1 Stunde	2 Stunden
1:50	trübe	Wogen	feinste Flöckchen	kleine Flöckchen
1:100	idem	idem	idem	feinste Flöckchen
1:200	idem	trübe	Wogen	idem
1:500	idem	idem	trübe	Wogen
1:1000	idem	idem	idem	idem
1:2000	idem	idem	idem	idem
1:5000	idem	idem	idem	idem

zwischen 50° und 55°				
	15 Minuten	30 Minuten	1 Stunde	2 Stunden
1:50	feinste Flöckchen	kleine Flöckchen	größere Flöckchen	beginnende Bodensatzbildung
1:100	idem	idem	idem	idem
1:200	Wogen	feinste Flöckchen	kleine Flöckchen	größere Flöckchen
1:500	idem	Wogen	kleinste Flöckchen	kleine Flöckchen
1:1000	trübe	idem	idem	idem
1:2000	idem	trübe	idem	idem
1:5000	idem	idem	Wogen	Wogen

Doch tritt dieselbe sowohl nach Schnelligkeit, wie nach Verlauf etwas anders in die Erscheinung als bei den Typhusbacillen. Wenn man bedenkt, daß das hier verwendete Serum bis 1:2000 agglutiniert, so ist es wohl auffallend, daß schon in der starken Konzentration 1:50 die Agglutination so mühsam zu stande kommt. Die Flöckchen, die sich hier bilden, sind viel kleiner als bei den Typhusbacillen und die größeren sind stets mit kleinen und kleinsten untermischt. Sie senken sich dementsprechend viel langsamer zu Boden, bei 37° kommt es nach 2 Stunden überhaupt nicht zur Bodensatzbildung, erst bei Stehenbleiben über Nacht bildet sich ein solcher, wobei die überstehende Flüssigkeit klarwird. Beim Aufschütteln löst sich der Bodensatz in feine Flöckchen, die sehr fest gefügt, mehr das Aussehen feinsten Körnchen haben. Mikroskopisch sieht man große Haufen aneinandergelagerter Kokken.

Es ist jedoch möglich, daß diese träge Agglutination nur für dieses Serum Gültigkeit hat, weil das Kaninchen nur kurze Zeit immunisiert war, während Kolle und Otto angeben, daß es einer monatelangen Behandlung bedarf, um ein stark agglutinierendes Serum zu erlangen. Es scheint vielleicht ein Unterschied zwischen hochwertigem und intensiv (schnell) wirkendem Serum zu sein, wobei letzteres durch lange Behandlung des Tieres zu erreichen ist. Indem Kolle und Otto bereits nach $1\frac{1}{2}$ Stunde grobe Flocken und Bodensatzbildung bekamen, hatten sie ein intensiv wirkendes Serum in der Hand, während das in unseren Versuchen angewendete ein zwar ziemlich hochwertiges, aber sehr schwach (langsam) wirkendes war. Diese träge Reaktion änderte sich nicht, auch wenn die stärksten Konzentrationen wie 1:10, 1:20 in Anwendung

kamen, und Agarkulturen, wie es Kolle und Otto angeben, in Kochsalzlösung unter den von ihnen verlangten Kautelen verrieben wurden. Eine Pseudoagglutination konnte sicher ausgeschlossen werden, weil die Kontrollröhrchen mit Kochsalzlösung und normalem Serum stets trübe blieben.

Ueberraschend war, daß durch Erhitzung selbst bis zu 100° die Entagglutination hier nicht zu stande kam, indem die Flöckchen bestehen blieben und eine gleichmäßige Trübung nicht eintrat. Bei hohen Konzentrationen des Serums tritt natürlich Trübung (Ausfallen des Eiweißes) auf, welche jedoch nichts mit der durch Lösung der Flöckchen zu stande gekommenen Trübung zu tun hat. Man kann auch trotz dieser Trübung die Flöckchen deutlich sehen. Es müßte also angenommen werden, daß die agglutinierbare Substanz sowohl als auch das Agglutinin gegen die Temperatur von 100° resistent sind, in der Tat ist nur die agglutinierbare Substanz hitzebeständig. Die Flöckchen bleiben auch im Gegensatz zu den Typhusbacillen bei Salzsäurezusatz bestehen, auch durch Schwefelsäure, wo Spuren bei den Typhusbacillen die Entagglutination herbeiführten, blieben die Flöckchen erhalten. Letztere ist jedoch nicht sehr geeignet, weil durch sie ein Niederschlag entsteht. Setzt man dann, um den Niederschlag zu lösen, Natronlauge hinzu, so werden auch die Staphylokokken aufgelöst. Auch mikroskopisch kann man sich vom Vorhandensein der Flöckchen überzeugen.

Die Erscheinung, daß die Entagglutination nicht zu stande kommt, kann darauf zurückgeführt werden, daß die Verbindung von Agglutinin und agglutinierbarer Substanz nicht mehr zu lösen ist, oder was wahrscheinlicher ist, darin, daß die Flöckchen so fest gefügt sind, daß es nicht mehr gelingt, die Lösung herbeizuführen, weder durch Schütteln, noch durch Hitze, noch durch chemische Agentien.

Interessant war die Beobachtung, daß die erste Generation agglutinierten Staphylokokken in Bouillon größtenteils zusammengeballt als Bodensatz wuchs, während die zweite Generation wie normaliter die Bouillon gleichmäßig trübte. Dieser Bodensatz ist allerdings nicht völlig identisch mit der Agglutination, indem er sich durch Schütteln und Erwärmung lösen ließ.

Ferner wäre noch die Tatsache erwähnenswert in Hinblick auf die Differenzierung pathogener und nicht pathogener Staphylokokken, daß ein Stamm von für Kaninchen pathogenen Staphylokokken durch dieses Serum nicht agglutiniert wurde, analog den Beobachtungen von Kolle und Otto, die durch ihr allerdings nur pathogene Kokken agglutinierendes Serum pathogene und nicht pathogene Staphylokokken unterscheiden konnten.

Daß bei der Temperatur von 55° auch Tuberkelbacillen beschleunigt agglutiniert werden, verdanke ich einer Bestätigung des Herrn Prof. Bail.

Daran schlossen sich Agglutinationsversuche mit Gelatine. Es kam die gewöhnliche 10-proz. Nährgelatine in Anwendung und zwar derart, daß, wie sich am geeignetsten herausstellte, zu 1 ccm Bakterienkultur $\frac{1}{2}$ ccm Gelatine gegeben wurde.

Abermals wurden Typhusbacillen zuerst der Untersuchung unterzogen. Es treten die Phasen der Agglutination genau so in die Erscheinung wie bei der Einwirkung des spezifischen Serums. Es trat bei 55° nach 1 Stunde Wogen auf, eine halbe Stunde später bildeten sich feinste Flöckchen, die dann langsam größer wurden. Zur Bodensatzbildung kam es nicht, auch nicht nach 24 Stunden langem Stehen-

bleiben bei Zimmertemperatur trotz Flüssigbleibens der Gelatine. Es hat dies sicherlich seinen Grund darin, daß die Gelatine als spezifisch schwere Flüssigkeit, dann auch durch ihre Viskosität die in ihr suspendierten Flöckchen in der Schwebe erhält. Bei 37° kommt nach 2 Stunden keine Agglutination zu stande, erst nach 24-stündigem Stehenbleiben bei Zimmertemperatur bilden sich feinste Flöckchen.

Es war nun zu untersuchen, ob die Gelatine nur durch mechanisches Aneinanderkleben der Bakterien die Agglutination zu stande bringt, oder ob dieselbe wie das spezifische Serum auf die agglutinierbare Substanz der Bakterien einwirkt. War letzteres der Fall, so durften Typhusbacillen, deren agglutinierbare Substanz durch Hitze zerstört ist, auch von der Gelatine nicht mehr agglutiniert werden. Es wurden sonach Typhusbacillen durch 5 Minuten auf 80° erhitzt und dann der Einwirkung der Gelatine ausgesetzt. Die Agglutination der Typhusbacillen durch Gelatine trat hierauf nicht mehr ein.

Es mußte auch hier wie bei den durch Serum agglutinierten Bakterien die Entagglutination zu stande kommen. Durch Erhitzung der durch Gelatine agglutinierten Typhusbacillen auf 80° wurde in einigen Minuten die Agglutination gelöst und trat nicht wieder ein, da ja die agglutinierbare Substanz zerstört ist. Die so erhitzten Bakterien sind also agglutinabel sowohl für das spezifische Serum als auch für die Gelatine. Die Flöckchen lassen sich und zwar sehr leicht zerschütteln, bilden sich aber immer wieder wie bei der durch Zerschütteln gelösten Serumagglutination.

Man ist wohl danach zur Annahme berechtigt, daß die Gelatine ebenso wie das spezifische Serum auf die agglutinierbare Substanz der Typhusbacillen einwirkt; die einzige Differenz liegt nur in der Schnelligkeit des Zustandekommens der Agglutination, indem dieselbe durch Gelatine erst nach 2 Stunden bei 55° deutlich in die Erscheinung tritt. Während das Agglutinin rapide auf die agglutinable Substanz einwirkt, scheint dieselbe dem Eindringen der Gelatine einen größeren Widerstand entgegenzusetzen.

Die Gelatineagglutination bei Cholera Pfeiffer wurde ebenfalls unter denselben Bedingungen — 1 ccm Bakterienkultur $\frac{1}{2}$ ccm Gelatine — beobachtet. Die Agglutination erfolgte in der bei den Typhusbacillen beschriebenen Weise sowohl bei 55° als auch bei 37°. Es galt auch für die Choleravibrionen den Nachweis zu erbringen, daß die Gelatine auf deren agglutinierbare Substanz wirkt. Ist dies der Fall, so mußte die Gelatine auch die erhitzten Choleravibrionen agglutinieren, da ja wie aus einem vorhergehenden Versuche erinnerlich ist, diese Bakterien die 3-stündige Erhitzung im strömenden Dampfe vertrugen, ohne daß sie ihre Fähigkeit, agglutiniert zu werden, einbüßten. Tatsächlich zeigte auch die Gelatine keinen Unterschied in Bezug auf die erhitzten und nicht erhitzten Bakterien, indem bei beiden die Agglutination eintrat.

Auch die Entagglutination der durch Gelatine agglutinierten Choleravibrione wurde untersucht. Dieselbe kommt bei der spezifischen Agglutination dadurch zu stande, daß das Serum inaktiviert wird, durfte also bei der Gelatineagglutination nicht eintreten, da die Gelatine nicht analog dem Serum durch Erhitzen unwirksam wird. Es wurden also die durch Gelatine agglutinierten Röhrchen der Erhitzung bis zu 100° ausgesetzt, die Flöckchen blieben bestehen, die Entagglutination trat nicht ein. Es ist also auch hier, ebenso wie aus dem entgegengesetzten Verhalten der

Typhusbacillen zu ersehen, daß die Gelatine bei den Choleravibrionen nur auf deren agglutinierbare Substanz einwirkt.

Bei den Staphylokokken ist eine Agglutination durch Gelatine nicht zu erzielen. Wie aus dem vorhergehenden bekannt, kommt bei den Staphylokokken die Agglutination mit spezifischem Serum schon äußerst schwierig zu stande, es hat also, um einen Ausdruck von vorhin zu gebrauchen, schon das Agglutinin einen gewissen Widerstand zu überwinden, um in die agglutinierbare Kokkensubstanz einzudringen. Es nimmt also nicht wunder, wenn die auch bei Typhus und Cholera um so viel langsamer wirkende Gelatine überhaupt nicht geeignet ist, auf die agglutinable Substanz der Staphylokokken einzuwirken.

Ueber weitere Versuche mit Gelatine soll in einer folgenden Arbeit berichtet werden.

Prag, 20. Mai 1904.

Literatur.

- Bail, Versuche über Typhusagglutinine und Präzipitine. (Archiv für Hygiene, Bd. XLII.)
 Eisenberg und Volk, Untersuchungen über die Agglutination. (Zeitschrift für Hygiene, Bd. XL, Heft 1.)
 Hahn und Tromsdorff, Ueber Agglutinine. (Münchener medizinische Wochenschrift, 1900. No. 13.)
 Joos, Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination. (Zeitschrift für Hygiene, Bd. XXXVI.)
 — —, Untersuchungen über die verschiedenen Agglutinine des Typhusserums. (Centralblatt für Bakteriologie, Bd. XXXIII. No. 10.)
 Kirstein, Beeinflussung der Agglutinierbarkeit. (Zeitschrift für Hygiene, Bd. XLVI, Heft 2.)
 Kolle und Otto, Die Differenzierung der Staphylokokken mittels der Agglutination. (Zeitschrift für Hygiene, Bd. XLI.)
 Zelenski, Ueber die Agglutination der Streptokokken. (Wiener klinische Wochenschrift, 1904. No. 15.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Agglutinationsfrage und insbesondere die Beteiligung der Geißeln der Bakterien.

[Aus dem hygienischen Institute der k. Universität Pisa.
 Direktor: Prof. A. Di Vestea.]

Von Dr. **Gino de' Rossi**, Assistenten und Privatdozenten.

Mit 3 Figuren.

(Schluß.)

Die eine Hälfte dieser Emulsion wurde in einem sterilisierten Glas behalten, die andere wurde unter den beiden Röhrchen einer kleinen Zentrifuge verteilt, die 2500 Drehungen in der Minute machte. Nach einer $\frac{1}{2}$ - oder $\frac{3}{4}$ -ständigen Zentrifugation scheint die ganze Bakterienmasse am Boden des Rohres in einem reichlichen Niederschlage agglomeriert zu sein. Die vollkommen klare und durchsichtige Flüssigkeit, in der die Untersuchung im hängenden Tropfen nur selten die Anwesenheit von Bacillen erweist (meistens 2—3 für jedes Gesichtsfeld des Mikroskopes), wurde durch eine Pipette in ein zweites sterilisiertes Glas gebracht. Präparate, aus dieser Flüssigkeit hergestellt und der Methode der Geißelfärbung unterworfen, offenbaren, trotz der

scheinbaren absoluten Klarheit und Durchsichtigkeit, eine Unmasse Geißeln, einige ganz, andere mehr oder weniger zerbrochen, doch immer gut erkennbar. Das Photogramm 3 stellt ein solches Präparat dar, das allerdings nicht direkt mit der Flüssigkeit, sondern mit einer sehr starken Verdünnung derselben hergerichtet worden war; ich hatte nämlich eine Oese davon auf einen großen Tropfen destilliertes Wasser verbreitet, um nachher eine Oese dieser Mischung auf ein dazu bestimmtes Deckgläschen zu bringen. Das als Beweis des Reichtums der Flüssigkeit an Geißeln!

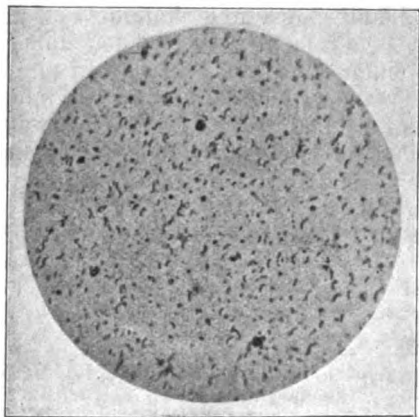


Fig. 3.

Nachdem jede Spur der Flüssigkeit von beiden Röhrchen entfernt ist, wird zu dem Residuum eine sterile physiologische Lösung hinzugefügt (deren Quantität dem Volumen der zentrifugierten Flüssigkeit entsprechen soll), das Ganze in das mit Glasstöpsel versehene Röhrchen gegossen und 5 Minuten lang geschüttelt, um die Geißeln abzutrennen, die vielleicht noch an den Bacillen hängen. Hierauf folgt eine nochmalige Zentrifugation, bis die Flüssigkeit ganz klar und durchsichtig ist; alsdann wird sie aspiriert und in ein drittes Gläschen geschüttet. Das bakteriische Residuum, mit demselben Volumen physiologischer steriler Lösung aufgenommen, wird in ein viertes Gläschen getan. Die Färbung zeigt bei diesem letzteren Präparat einen absoluten Mangel an Geißeln.

Es standen mir also 4 Flüssigkeiten zur Verfügung. Die erste (die ich komplett nennen werde) ist eine homogene Emulsion des kulturellen Belags ohne Modifikationen. Die zweite (Geißelflüssigkeit) ist eine klare und durchsichtige Flüssigkeit, die aber eine sehr große Quantität Geißeln enthält, und zwar so viele, wie deren bei den Bakterien eines dementsprechenden Volumens kompletter Emulsion zu sehen sind. Die dritte (oder Abspülungsflüssigkeit) enthält außer einigen Bacillen noch manche Geißeln, die sich früher nicht abgetrennt hatten und noch jene dazu, die nach der ersten immer unvollkommenen Dekantation mit der Flüssigkeit zurückgeblieben sind. Die vierte (bakterische Flüssigkeit) enthält geißellose Bacillen und deren ungefähr so viele, wie in einem gleichen Volumen kompletter Emulsion sind.

Alsdann suchte ich vier gesunde, in gutem Nährzustande sich befindende Kaninchen, die ungefähr dasselbe Gewicht hatten, und jedem wurden in das Peritoneum 2 ccm von einer der vier verschiedenen Flüssigkeiten eingespritzt. Die Inokulation wurde ein zweites Mal nach 8 Tagen und ein drittes Mal nach 14 Tagen wiederholt, immer mit derselben Quantität (2 ccm) der verschiedenen Präparate. 6 Tage nach der dritten Inokulation wurde ein Aderlaß ausgeführt und aus jedem Kaninchen 3—4 ccm Blut herausgenommen, das normal koagulierte und farbloses Serum lieferte.

Im Anfang untersuchte ich die Agglutinationskraft des so erhaltenen

Serums makroskopisch und mikroskopisch und kam bald zur Ueberzeugung, daß die zweite, nach den im folgenden gegebenen Maßregeln ausgeführte Untersuchung eine viel größere Genauigkeit und Sicherheit besitzt, wodurch die makroskopische überflüssig wurde. Die Probe, mit frischer Bouillonkultur (6—7 Stunden bei 37°, 12—18 Stunden bei 20°) ausgeführt, zeigte isolierte oder zu kurzen Fäden verbundene Bacillen; alle waren sehr beweglich. Mit einer kleinen Platinöse (es war immer dieselbe, die ich nur zu diesem Zwecke benutzte) tropfte ich auf ein Deckgläschen 5 gleiche Kulturtröpfchen auf. Das erste sollte als Kontrolle dienen, den anderen fügte ich eine Oese aus je einem Serum, mit destilliertem Wasser auf 1:50 verdünnt, hinzu. Das Glas wurde auf den hohlen Objektträger für die Untersuchung im hängenden Tropfen aufgelegt, die Ränder mit Vaseline sorgfältig geschlossen und nach einem halbstündigen Aufenthalt im Thermostat der Untersuchung unterworfen.

Um den höchsten Verdünnungsgrad zu bestimmen, der bei jedem Serum eine komplette Agglutination hervorruft, bereitete ich noch andere Präparate mit verschiedenen Serumverdünnungen (1:100, 1:200, 1:1000 u. s. w.). Die Agglutination ist eine absolut positive, wenn nach einem halbstündigen Aufenthalt im Ofen die Bacillen des Kontrolltröpfchens deutlich beweglich sind, während in den anderen, denen man Serum beigefügt hat, keine beweglichen und nur wenige isolierte Bacillen zu sehen sind, von denen die meisten in mehr oder weniger großen, doch immer sehr dichten Haufen versammelt sind. Als leichte Agglutination bezeichne ich einen Agglutinationsprozeß, wo neben den Haufen eine gewisse Menge von isolierten Bacillen ist, die keine Beweglichkeit oder eine leichte oscillatorische oder vibratorische Bewegung in situ zeigen, aber keine Verschiebung. Kommen Bacillen mit wirklichen Translationsbewegungen zum Vorschein und gibt es auch einige kleine Bakterienhäufungen dazu, dann halte ich die Agglutination für mißlungen. Die Beobachtung wurde immer nach gleich langem Aufenthalt — $\frac{1}{2}$ Stunde im Ofen bei 37° — vorgenommen, nichtsdestoweniger wurden die Resultate immer durch eine nach 1—2 Stunden folgende Untersuchung kontrolliert; die Präparate blieben in Zimmertemperatur. Diese zweite Untersuchung bestätigte immer und mit noch größerer Deutlichkeit die durch die erste gegebenen Resultate.

Ich will nun die erhaltenen Resultate mitteilen, und zwar nur die des letzten Experimentes, da dies das vollkommenste ist und mit der größten Genauigkeit ausgeführt wurde; die anderen Experimente sind mit diesem absolut übereinstimmend.

Die vollkommene Agglutination der Bouillonkultur durch die Sera (komplettes, Bacillen-, Geißel-, Abspülungsserum) geschah mit den Verdünnungen 1:1600 resp. 1:750, 1:650, 1:50.

Daraus ergibt sich, daß das Agglutinationsvermögen fast dasselbe ist infolge der Einspritzung mit Bacillen oder mit Geißeln, und das Agglutinationsvermögen des nach Immunisation des Tieres mit einem bestimmten Volumen der kompletten Emulsion erhaltenen Kaninchenserums (höchste Verdünnung, die eine vollkommene Agglutination hervorbringt) fast genau der Summe der Agglutinationskräfte eines gleichen Volumens beider Sera entspricht, die aus zwei mit der Bacillen- resp. mit der Geißelflüssigkeit eingespritzten Tieren erhalten werden.

Aus dieser durch das Experiment bewiesenen Tatsache kann man die Folgerung ziehen, daß der Geißelapparat eine große Rolle bei der Agglutinationskraft der beweglichen Bakterien

spielt. Diese ist jedoch keineswegs als eine spezifische Eigenschaft desselben zu halten, da er diese Fähigkeit mit den anderen Teilen des Mikroorganismus gemeinsam hat. Sie ist vielmehr eine Eigenschaft des bakterischen Protoplasma im allgemeinen.

Da die größere Agglutinierbarkeit der beweglichen Mikroorganismen nicht von einem spezifischen, durch die Geißeln gelieferten agglutinogenen Vermögen herrühren kann, so dachte ich, daß dies Phänomen seine Erklärung vielleicht in einer größeren Affinität zwischen Agglutinin und dem übrigen bakterischen Körper bestehen könnte. Es würden dann bei gleichem agglutinierenden Vermögen des Serums die mit Geißeln versehenen Bacillen eine größere Empfindlichkeit gegenüber den Agglutininen zeigen. Es lag nahe, festzustellen, inwieweit diese Hypothese begründet war, und zu diesem Zwecke habe ich eine Reihe von Experimenten angestellt, die nur übereinstimmende Resultate geliefert hat und von denen ich nur das mitteilen möchte, was ich mit den Sera ausgeführt habe, deren Agglutinationskraft ich schon angegeben habe.

Nach der angegebenen Technik, jedoch mit einem sehr dichten Belag, habe ich die 4 Flüssigkeiten hergestellt, d. h. komplette Bacillen, Bacillen allein, Geißeln allein, Abspülungswasser.

Diesen Flüssigkeiten wurden verschiedene Mengen der agglutinierenden Sera hinzugefügt; nachher untersuchte ich die Mischungen, um zu sehen, ob und in welchem Grade die Agglutinine durch die kompletten Bakterien oder durch die Bacillen allein u. s. w. fixiert worden waren. In je eine Reihe von kleinen sterilisierten Probiergläsern goß ich 1 ccm der 4 Emulsionen ein, und jeder Reihe wurden 1, 3, 4, 12, 15, 20 Tropfen von komplettem Bacillen- und Geißelserum in der Verdünnung 1:50 hinzugebracht. Die Probiergläser wurden geschüttelt und eine halbe Stunde im Thermostaten bei 37° und nachher 12 Stunden im Eisschrank gehalten. Nach diesem Zeitpunkt hatten sich alle Bacillen auf den Boden niedergelassen und die Flüssigkeiten erschienen vollkommen klar. Alsdann prüfte ich nach der oben angegebenen Methode die Agglutinationskraft jeder Flüssigkeit, indem die Untersuchung an einer frischen Bouillonkultur geschah. Die erhaltenen Resultate stellt die folgende Tabelle (p. 111) dar:

Ich muß gleich darauf aufmerksam machen, daß der Mangel an Agglutination nie einer allzugroßen Verdünnung des Serums zuzuschreiben war, und zwar weil die letztere nicht über 1:350 geht (während die höchste Verdünnung, die mit dem weniger aktiven Serum [Geiß.] eine vollkommene Agglutination bewirkt, 1:650 ist) und weil die mit dem einfachen Abspülungswasser in Berührung gekommenen Sera ihr Agglutinationsvermögen behalten. Das festgestellt, kann man aus der Tabelle die folgenden Schlüsse ziehen:

1) Es gibt keinen Unterschied im Verhalten der 3 Sera, da an eine elektive Wirkung des Bacillen- oder des Geißel-Serums auf die Bakterienkörper oder auf die Geißeln nicht zu denken ist. Der einzige Unterschied besteht in einer größeren Deutlichkeit der mit dem kompletten Serum erhaltenen Resultate, die von der höheren Agglutinationskraft abhängig ist.

2) Die Agglutinationskraft der verschiedenen Sera hört infolge des Zusatzes einer genügenden Menge der verschiedenen Präparate auf. Die

Quantität und Qualität des Serums		Agglutinationskraft der Serumverdünnungen 1:50, nach Berührung mit 1 ccm von			
		kompletter Flüssigkeit	Bacillen- flüssigkeit	Geißel- flüssigkeit	Abspülungs- Wasser
Serum komp.	1 Tropfen	unbemerkbar	unbemerkbar	unbemerkbar	unverändert
	3 "	"	schwach	"	"
	4 "	"	unverändert	"	"
	12 "	"	"	sehr leicht?	"
	15 "	leicht	"	leicht	"
Serum Bac.	20 "	unverändert	"	unverändert	"
	1 Tropfen	unbemerkbar	unbemerkbar	unbemerkbar	unverändert
	3 "	"	"	"	"
	4 "	"	leicht	"	"
	12 "	"	unverändert	sehr leicht	"
Serum Geiß.	15 "	sehr leicht	"	unverändert	"
	20 "	unverändert	"	"	"
	1 Tropfen	unbemerkbar	unbemerkbar	unbemerkbar	unverändert
	3 "	"	"	"	"
	4 "	"	"	"	"
Serum Geiß.	12 "	"	leicht	"	"
	15 "	"	unverändert	leicht	"
	20 "	leicht	"	"	"

Emulsion von kompletter Kultur vernichtet die Agglutinationskraft von bedeutenden Serummengen (1 ccm Kultur genügt, um die Wirkung von 12 Tropfen des kompletten Serums bei der Verdünnung 1:50 zu beseitigen). Eine ebenso zerstörende Wirkung zeigt die Geißelemulsion (bei einer mit denselben Proportionen bereiteten Mischung bemerkt man nur eine kaum sichtbare Spur von Agglutination). Die Emulsion mit den Bakterienkörpern dagegen, wo keine Geißeln vorhanden sind, übt eine viel schwächere Wirkung aus (1 ccm solcher Emulsion hat keinen zerstörenden Einfluß auf 3 Tropfen des kompletten Serums).

Es ist also klar, daß die Geißeln die Hauptrolle bei der Agglutininfixierung spielen — der Körper dagegen nur eine sehr kleine. Die größere Deutlichkeit, mit welcher dieses Phänomen bei den beweglichen Bakterien zu bemerken ist, und die nicht von einem spezifischen agglutinogenen Vermögen der Geißelsubstanz abhängen kann, wie ich es bewiesen habe, findet ihre Erklärung durch eine besondere Empfindlichkeit der Geißeln gegenüber den agglutinierenden Substanzen der spezifischen Sera.

Eine Einwendung, die man gegen meine Schlüsse leicht erheben könnte, ist die folgende: Ist es vielleicht möglich, daß die Geißelflüssigkeit nicht bloß die Geißeln allein, sondern auch irgend eine Substanz enthält, die sie aus der Bakterienzelle herausgezogen hat, und welcher man die Produktion der Serumagglutinationskraft zu danken hat?

Verschiedene Betrachtungen schienen mir überzeugend genug, um diese Einwendung zu bekämpfen, und zwar die relative Leichtigkeit, mit welcher die Geißelfärbung ausgeführt werden kann, während das nicht der Fall ist, wenn die Flüssigkeiten Spuren von fremden organischen Substanzen enthalten; das mangelhafte Agglutinationsvermögen des Serums eines Tieres, das mit der Abspülungsflüssigkeit der Bakterien behandelt worden ist (nachdem die Flüssigkeit mit den Bakterien ebenso lange wie die Geißelflüssigkeit in Berührung gewesen ist); die augen-

scheinliche Integrität der Bakterien, die mit den beiden NaCl-Lösungen in Berührung gekommen sind, und endlich die Tatsache der wirklichen Fixierung der Agglutinine durch die Geißeln.

Doch dachte ich mir, daß man einer direkten Untersuchung einen höheren Wert beilegt, als allen Betrachtungen, und darum wählte ich einen Mikroorganismus, der keine Geißeln besaß (ein unbeweglicher, colähnlicher Mikroorganismus) und bereitete nach der schon beschriebenen Technik eine Emulsion, die zentrifugiert wurde (der Mikroorganismus war kleiner und die Zentrifugation nahm eine längere Zeit in Anspruch als sonst). Dann wurde die klare Flüssigkeit entfernt, der bakterische Niederschlag mit gleichem Volumen von physiologischer Lösung aufgenommen und zwei Kaninchen mit gleichen Mengen der mit den Bakterien in Berührung gekommenen Flüssigkeit und der Bakterienemulsion geimpft. Nach der dritten Einspritzung zeigte das Serum des mit Mikroorganismen behandelten Kaninchens bei der Verdünnung 1:170 ein deutliches Agglutinationsvermögen, das andere Serum agglutinierte jedoch nicht sehr und nur mit der Verdünnung 1:20.

Ich will hier nicht entscheiden, ob diese Agglutinationskraft des Serums des mit Abspülungswasser inokulierten Kaninchens vor der Inokulation schon existierte oder von irgend einem der Zentrifugation entgangenen Mikroorganismus abhängt oder auch, ob sie einem aus dem Bakterienkörper ausgezogenen Prinzip zuzuschreiben war; auf jeden Fall war diese Agglutinationskraft so schwach, daß sie keineswegs mit jener des *B. subtilis* zu vergleichen und also der Anwesenheit der Geißeln zuzuschreiben war.

Keine der Meinungen der verschiedenen hier erwähnten Verfasser über diese Frage wird durch meine Untersuchungen bestätigt, obgleich sie untereinander vollkommen widersprechend sind. Meine Untersuchungen beweisen, daß von zwei verschiedenen agglutinierenden Substanzen keine Rede sein kann (die Somatoagglutinine und die Cilioagglutinine von Smith und Reagh), und daß dagegen das konstante Verhältnis zwischen Beweglichkeit und Agglutinierbarkeit der Bacillen nicht ausgeschlossen werden kann, wie Lesieur behauptet.

Sie sind aber mit jenen von Nicolle und Trenel und von Defalle übereinstimmend, wenn sie den Geißeln eine wichtige Rolle bei dem Mechanismus der Agglutination zuschreiben, nicht jedoch, wenn sie ausschließlich dem Geißelapparat die Produktion der agglutinierenden Substanz zuerkennen und eine Parallele zwischen Beweglichkeit, agglutinogenem Vermögen und agglutinativer Fähigkeit feststellen. Das bestätigen meine Untersuchungen nur zum Teil, und zwar zwischen Geißelanwesenheit und agglutinativer Fähigkeit, dieser Zusammenhang besteht aber nicht zwischen Agglutininproduktion und Fixierung der Agglutinine; die erste geht den ganzen Bakterienkörper, die zweite besonders die Geißeln an. Dadurch würde die höhere Agglutinierbarkeit der beweglichen Mikroorganismen erklärt, welche also im Verhältnis zu der Geißelanwesenheit steht, nicht aber weil nur diese Organe agglutinierende Substanz hervorbringen, sondern weil sie ihrer Wirkung gegenüber empfindlicher sind.

Da die Erfahrungen, auf welche Nicolle und Trenel sowie Defalle ihre Schlußfolgerungen begründet hatten, mit solchen Bakterienarten ausgeführt gewesen waren, die je nach der Entwicklungs-

temperatur beweglich oder unbeweglich waren, so schien es mir vielleicht der Mühe wert, einige analoge Untersuchungen vorzunehmen, in der Absicht, die Ursache der Verschiedenheit unserer resp. Resultate festzustellen.

In meiner zahlreichen Sammlung von typhus- und coliähnlichen Bacillen habe ich verschiedene Arten, welche die oben erwähnte Eigenschaft in ausgeprägter Weise besitzen. Ich habe einen coliähnlichen Bacillus ausgesucht, der, in Agar bei 15° kultiviert, einen reichlichen feuchten Belag erzeugt, der aus sehr beweglichen kleinen und mit langen, zahlreichen Geißeln (10—12) versehenen Bakterien besteht. Bei 37° kultiviert scheint er fast ganz unbeweglich, und Präparate, gleichzeitig mit derselben Methode und auf demselben Gläschen, wie die anderen angestellt, zeigen Bacillen, die keine Geißeln haben oder höchstens 1—2.

Mit diesen zwei Belägen, der erste bei 15°, der andere bei 37° entwickelt, habe ich zwei reichliche Emulsionen bereitet; die zweite machte ich absichtlich dichter und reicher an Bacillen. Zwei Kaninchen wurden mit gleichen Quantitäten (2 ccm) dieser beiden Emulsionen geimpft, und ich mußte sie 7 Tage später zu Ader lassen. Die Agglutinationskraft der beiden Sera (die ich als S 15° und S 37° bezeichnen will), wurde zuerst mit zwei Bouillonkulturen geprüft, eine bei 15° (sehr beweglich), die andere bei 37° (fast unbeweglich) entwickelt, indem die mikroskopische Untersuchung nach der schon bekannten Technik mit verschiedenen Verdünnungen ausgeführt wurde. Beide Sera beweisen eine starke Agglutinationskraft auf die bewegliche Form, aber während das S 15° in der Verdünnung 1:1000 noch wirksam ist, verliert das S 37° sein Vermögen nach der Verdünnung 1:800, obgleich es aus dem Tier herkommt, das ich mit einer größeren Quantität von Bacillen inokuliert hatte. Der Unterschied ist allerdings nicht sehr groß, aber auf jeden Fall, worauf ich aufmerksam machen will, beweist dieses Resultat, daß auch das von der unbeweglichen Form erhaltene Kaninchenserum eine bedeutende Agglutinationskraft gegenüber den beweglichen Kulturen zeigt.

Die Wirkung der beiden Sera ist dagegen auf die Kultur bei 37° sehr schwach, da die Agglutination schon unsicher ist mit der Verdünnung 1:50.

Die Untersuchung wurde durch die Sättigungsprobe der beiden Sera vervollkommnet, wozu man die beiden (bewegliche und unbewegliche) Kulturen anwendete. Ich habe also die zwei dichten Emulsionen bereitet (noch dichter als gewöhnlich war die des bei 37° entwickelten Mikroorganismus), in zwei Reihen von Probierröhrchen 1, 5, 10, 15, 30 Tropfen jeder Emulsion zugegossen, um das Volumen von 30 Tropfen mit Zusatz von steriler physiologischer Lösung zu vervollständigen; außerdem goß ich noch 5 Tropfen des Serums 15° und nach halbstündigem Aufenthalt bei 37° und 12-stündigem im Eisschrank habe ich nach der üblichen Technik die Agglutinationskraft der durch Sedimentation oder Zentrifugation klar gewordenen Mischung auf bewegliche Bouillonkultur untersucht. Ein analoges Experiment stellte ich auch mit dem Serum 37° an und, wie vorausszusehen war, mit identischem Resultat, das die folgende Tabelle (p. 114) darstellt.

Das Resultat dieser Erfahrungen könnte nicht klarer sein, da es alle meine Untersuchungen bestätigt. Die bewegliche ebenso wie die unbewegliche Form zeigt die Fähigkeit, agglutinierende Substanzen zu liefern; nur bei der ersten, die beweglich und mit Geißeln versehen ist, tritt das Phänomen

Tropfen der bakterischen Emulsion	Agglutinationskraft der Sera 15° und 37° (5 Tropfen) nach Berührung mit Emulsion von	
	bei 15° entwickelten Bakterien (beweglich)	bei 37° entwickelten Bakterien (unbeweglich)
1 Tropfen	unverändert	unverändert
5 "	leicht	"
10 "	sehr leicht	"
15 "	unbemerktbar	"
30 "	"	leicht

der Agglutination deutlich hervor. Das wird durch die Tatsache bestätigt, daß diese Flüssigkeit, in genügend großer Menge mit dem Serum gemischt, die Agglutinine fixiert, während die unbewegliche Form nur in bedeutend größeren Mengen die agglutinierende Fähigkeit des Serums vermindert.

Schlußfolgerungen.

1) Die Agglutinationskraft des künstlich bereiteten Serums von Tieren ist in fast gleichen Proportionen durch die Inokulation mit Bacillen sowie mit Geißeln hervorgerufen.

2) Die Agglutinationskraft des Serums der mit kompletten Bacillen inokulierten Tiere entspricht ungefähr der Summe der agglutinierenden Kräfte des Serums von Tieren mit Bacillen resp. mit Geißeln allein inokuliert.

3) Das agglutinierende Serum der mit Bacillen oder mit Geißeln inokulierten Tiere übt keine elektive Wirkung auf den Bakterienkörper oder auf die Geißeln aus, d. h. die Existenz von Cilioagglutininen und Somatoagglutininen ist ausgeschlossen.

4) Kommt das Serum mit der nur Geißeln enthaltenden Flüssigkeit in Berührung, so ist die darauffolgende Aufhebung der agglutinierenden Kraft desselben Serums (sei es durch Inokulation mit kompletten Bacillen, mit Bacillen allein oder mit Geißeln bereitet) eine viel intensivere, als wenn es mit der Flüssigkeit gemischt wird, die nur Bakterienkörper enthielt; die Fixierung der Agglutinine also geschieht besser durch die Geißeln als durch die Bakterienkörper.

5) Der leicht erkennbare Parallelismus zwischen Bakterienbeweglichkeit und Agglutinierbarkeit, d. h. die Tatsache, daß das Agglutinationsphänomen bei den beweglichen Bakterien deutlicher hervortritt als bei den unbeweglichen und bei anderen Zellenelementen, kann nicht einer spezifischen agglutinogenen Fähigkeit des Geißelapparates zugerechnet werden; es genügt auch nicht, um diesen bedeutenden Unterschied zu erklären, die andere Tatsache, daß die Geißeln, welche den Hauptteil vieler Mikroorganismen darstellen, bei der Produktion von agglutinierenden Substanzen mitwirken. Wie es scheint, haben die Geißeln eine besondere Fähigkeit, die Agglutinine zu fixieren. Es handelt sich also nicht um eine spezifische agglutininbildende Fähigkeit, sondern um eine spezifische agglutininfixierende Fähigkeit.

6) Bei den Agglutinationserscheinungen der beweglichen Bakterien bleiben die Geißeln dem Bakterienkörper anhaftend und zeigen keine Modifikation weder der Form, noch der Anordnung und Anzahl.

7) Die beiden Tatsachen a) des Mangels an augenscheinlichen Modifikationen der Geißeln bei der Agglutination und b) der besonderen Empfindlichkeit gegenüber den Agglutininen, scheinen mir ein wohlbegründetes Argument zu sein gegen die Theorie von Grüber und diejenigen anderer Autoren, die der Agglutination besondere Modifikationen der Bakterienmembran zuschreiben; dieselben Tatsachen sprechen zu Gunsten der Theorie von Bordet, welcher die Agglutination als ein einfaches physisches Phänomen betrachtet, das von besonderen Verhältnisveränderungen der molekularen Attraktion zwischen den verschiedenen bakteriischen Elementen untereinander und zwischen diesen und der sie umgebenden Flüssigkeit abhängig ist.

8) Aus einem praktischen Gesichtspunkt wird durch meine Versuche die absolute Richtigkeit bestätigt, daß die Agglutinationsprobe der beweglichen, mit ihrem normalen Geißelapparat versehenen Kulturen ausgeführt werden muß.

Die Photographieen habe ich mit einer gewöhnlichen Dunkelkammer, einem Mikroskope Koristka mit Immers. Obj. $\frac{1}{12}$, und Ok. kondens: 2-Vergrößerung, mit objektivem Mikrometer kontrolliert, von 850 Durchschnitt. Sie stellen die folgenden, nach meiner Methode gefärbten Präparate dar:

- 1) *B. subtilis* aus einer Agarkultur (7 Stunden bei 37°).
- 2) *B. subtilis* aus einer Bouillonkultur (12 Stunden bei 37°) nach Agglutination mit dem spezifischen Serum.
- 3) Die Geißeln allein, mechanisch von dem *B. subtilis* abgetrennt (7-stündige Agarkultur bei 37°).

Zusatz bei der Korrektur: Diese Arbeit wurde in der Accademia Medica di Pisa in der Sitzung vom 23. März 1904 mitgeteilt, wie aus der offiziellen Berichterstattung der Sitzung im *Giornale italiano delle Scienze Mediche* vom 1.—15. April 1904 erhellt, und der Teil, welcher sich auf die Färbung der Geißeln der agglutinierten Bakterien bezieht, ist durch Hinterberger vollkommen bestätigt worden, wie man aus der Schrift „Färbungen agglutiniertes Typhusbacillen mit Silbernitrat“, in diesem Centralblatt f. Bakt. vom 16. Juni 1904 erschienen, ersieht.

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Bakterizidie durch Alkohol.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. u. k. Militär-sanitätskomitees in Wien (Vorstand: Oberstabsarzt Dr. L. Kamen).]

I. Mitteilung.

Von Dr. Victor Russ, k. u. k. Oberarzt.

Buchholz (1) hatte schon im Jahre 1875 in einer ausführlichen Arbeit die desinfektorische Kraft des Alkohols beschrieben. Er nahm Kochfläschchen, die er mit je 20 ccm Nährflüssigkeit und Alkohol füllte, durch 3 Tropfen einer bakterienhaltigen Flüssigkeit infizierte und nun beobachtete.

Es zeigte sich bei diesem Versuche, daß die Bakterienentwicklung wohl verzögert, aber nicht gehemmt wurde, weil, wie Verf. glaubt, der Alkohol verdunstete. Um das zu verhindern, stellte er folgenden Versuch an:

Die wie oben beschrieben vorbereiteten Kochflaschen werden mit Quecksilber bis zur Hälfte gefüllt, dann verkehrt in eine Quecksilber enthaltende pneumatische Wanne getaucht, so daß sich über dem Flüssigkeitsspiegel in den Kochflaschen etwa 40—50 ccm atmosphärische Luft befindet.

Die Gegenwart von 2 Proz. absolutem Alkohol hatten genügt, um jede Bakterienentwicklung zu verhindern. Bei einem weiteren Versuch wurde nur die Modifikation gemacht, daß das Quecksilber früher durch Erhitzen auf 100° sterilisiert wurde. Da ergaben sich folgende Resultate: Ohne Alkoholzusatz wurde die Nährflüssigkeit nach 3½ Tagen undurchsichtig, bei 0,5, 1,0, 1,5 Proz. begann eine Trübung nach 5½ Tagen, die nach 9½ Tagen sehr stark wurde, bei 2 Proz. blieb das Nährmedium dauernd klar.

Ein 4. Versuch zeigte, daß, 20,88 Proz. absoluten Alkohols einer bestimmten Menge Nährflüssigkeit zugesetzt, nicht im stande waren, Bakterien für ihre Fortpflanzungsfähigkeit bei einer Einwirkungsdauer von 1 Stunde 25 Minuten zu vernichten, während bei längerer Berührung schon 8,23 Proz. Alkoholzusatz bakterizid wirkten.

In einer 5. Versuchsreihe ergab sich als untere Grenze für die Desinfektionskraft gegen Bakterien bei einer Einwirkungsdauer von 1½ Stunden ein Zusatz von 25,86 Proz. absoluten Alkohols.

Verf. zieht aus seinen Versuchen folgendes Resumé: „Der Alkohol ist ein langsam wirkendes Gift. Läßt man ihn längere Zeit mit den zu vergiftenden Bakterien in Berührung, so genügt rund 10 Proz. Zusatz zu ihrer Tötung“.

Koch (2) fand bei seinen Versuchen mit Alkohol resp. Allylalkohol, daß:

1) Absoluter Alkohol, 50-proz., 33-proz. ohne Unterschied, die Entwicklungsfähigkeit von Milzbrandsporen, an Seidenfäden angetrocknet, selbst nach einer Einwirkungsdauer von 110 Tagen nicht verhindere.

2) Allylalkohol behindert das Wachstum derselben schon bei einer Verdünnung von 1 : 167 000, hebt es aber nicht auf.

Er bediente sich zur Erforschung dieser Tatsache folgender Methode:

In 6 Glasschalen, gefüllt mit je 10 ccm Fleischextraktpeptonlösung, wurden je 1, 2, 4, 6, 8, 12 Tropfen Allylalkohol zugefügt und ebenso in eine Kontrollschale ohne Alkohol je ein mit Milzbrandsporen behafteter Faden eingelegt, dann alle 7 Schalen unter eine Glasglocke gestellt. Nach 4 Tagen war nichts gewachsen. Nun wurden die Fäden herausgenommen und auf Nährgelatine übertragen, wo sich nach 2 Tagen üppiges Wachstum zeigte. Koch erklärt die Tatsache, daß auch in der Kontrolle unter der Glasglocke nichts gewachsen war, damit, daß Allylalkohol — auch seine Dämpfe — das Wachstum behindern, sobald aber der Allylalkohol sich verflüchtigt hatte, könne Entwicklung ungestört vor sich gehen.

Erst Fürbringer (3) hatte den Alkohol als Desinficiens 1888 in die Praxis eingeführt und dessen Wirkung in seiner ersten Bearbeitung dieser Frage, der Entfettung der zu sterilisierenden Haut, wodurch das nachfolgende Desinficiens leichter eindringen könne — also einem rein mechanischen Einflusse zugeschrieben.

Diese Arbeit hatte nun eine Reihe von Publikationen zur Folge, deren Resultate hier in kurzem wiedergegeben sein sollen. Man beschäftigte sich mit der Frage, ob denn der Alkohol nicht an und für sich eine bakterizide Wirkung besäße, was Reinicke (4) und Schäffer (5) durch eine Reihe von Untersuchungen zeigten. Ersterer erklärt den Alkohol als das „alleinig wirkende Agens bei der Fürbringerschen Methode der Händedesinfektion“. Die ausgedehnten Versuche von Ahlfeld (6) im Vereine mit Vahle ergaben, daß absoluter Alkohol auf angetrocknete Staphylokokken allerdings wirkungslos sei, feuchte jedoch nach einer Berührungsdauer von 2 Minuten abtöte. Diese Tatsache erklärten die Untersucher durch einen Diffusionsstrom, der beim Kontakt von feuchten Massen mit Alkohol entstehe und ihm die Möglichkeit so schaffe, seine bakterizide Kraft auf die Mikroorganismen auszuüben.

Diesen Anschauungen trat Charles Leedham Green (7) entgegen, der, gestützt auf eigene Untersuchungen, dem Alkohol jegliche Desinfektionskraft abspricht. In einer Erwiderung legt Ahlfeld (8) nochmals seine Behauptungen dar und erklärt Greens Mißerfolge als durch Fehler im Gange der Untersuchung entstanden.

Auch Fürbringer und Freyhan (9) anerkennen auf Grund neuer Versuche, daß der Alkohol schon an und für sich bakterizid wirke, welcher Anschauung sich auch Adolf Schmidt (10) anschloß.

Nun wurde aber die Frage aufgeworfen, ob Alkohol nur in absolutem oder auch im verdünnten Zustande eine Desinfektionskraft besäße.

Poten (11) erklärt, daß man 48-proz. Alkohol mit besserem Erfolge anwende als starken Weingeist.

Buchner, Fuchs, Megele (12) schreiben dem 60-proz. die größte bakterizide Kraft zu.

Epstein (13) beschäftigte sich eingehend mit dieser Frage und kam zu nachstehenden Resultaten: Er wendete bei seinen Versuchen die Methode, wie Koch sie zur Erkennung der Desinfektionsfähigkeit eines Körpers angegeben hatte, an. In eine 24-stündige Bouillonkultur wurden sterile Seidenfäden von gleicher Länge und Stärke durch 12 Stunden eingelegt, sodann in sterilen Schalen bei Bruttemperatur durch 24 bis 36 Stunden getrocknet. Hierauf werden sie durch verschiedene Zeiträume mit Alkohol in verschiedenen Konzentrationen in Berührung gebracht, schließlich in Bouillon übertragen und der Bruttemperatur ausgesetzt.

Zur Verwendung kamen Kulturen von *Pyocyanus*, *Prodigiosus*, *Staphylococcus pyogenes aureus* und sporogene Milzbrandbacillen.

Die Untersuchung zeigte, daß absoluter bis 80-proz. Alkohol keine keimtötende Wirkung besitzt, daß aber die bakterizide Kraft der Konzentrationen von 80–50 Proz. sich steigere, wenn sie auch bei der letztgenannten Konzentration „eine recht schwache“ sei. Selbst lange (3–4 Wochen) aufbewahrte trockene Fäden von *Pyocyanus* zeigten noch nach 10 Minuten dauernder Alkoholeinwirkung nur temporäre Entwicklungshemmung.

Alkoholkonzentrationen unter 50 Proz. nehmen an Wirkung wieder ab.

Saul (14) arbeitete mit siedenden Alkoholen und findet, daß ihr Desinfektionswert bei absolutem Zustande gleich Null ist.

Minervini (15) stellte seine Untersuchungen teils nach Epsteins, teils nach eigener Methode mit Stahlnadeln an, nach deren Sterilisation in Hitze die Bakterien wie an die Seidenfäden angetrocknet

wurden. Er glaubte, dadurch einem Eindringen der Bakterien zwischen die Fasern der Seide und dem dadurch möglichen Hindernis für die Alkoholwirkung vorbeugen zu können. Auch hat er die Fäden nach dem Liegen in Alkohol nicht, wie Epstein, in Wasser abgespült.

Untersucht wurden Kulturen von 1) *Micrococcus tetragenus*, 2) *Pyocyaneus*, 3) *Prodigosus*, 4) *Staphylococcus*, 5) *Coli*, 6) *Subtilis* und 7) *Anthrax* mit folgendem Resultate:

a) für Seidenfäden:

- ad 1) 99-proz. Alkohol Wachstum bis nach 12 Stunden,
77 " und 50-proz. Wachstum bis nach 30 Minuten,
25 " bis nach 1 Stunde;
- ad 2) 99 " bis nach 24 Stunden,
77 " und 50-proz. bis nach 10 Minuten,
25 " bis nach 1 Stunde;
- ad 3) 99 " bis nach 24 Stunden,
70 " und 50-proz. bis nach 30 Minuten,
25 " bis nach 1 Stunde;
- ad 4) 99 " bis nach 3 Tagen,
70 " und 50-proz. bis nach 1 Stunde,
25 " bis nach 24 Stunden;
- ad 5) 99 " bis nach 12 Stunden,
70 " und 50-proz. bis nach 1 Stunde,
25 " bis nach 24 Stunden;
- ad 6) 99 " bis nach 8 Tagen, ebenso bei 70-, 50-, 25-proz.;
- ad 7) bei allen Konzentrationen bis nach 50 Tagen Einwirkungs-
dauer.

b) für Stahlnadeln Wachstum:

- ad 1) 99-proz. bis nach 6 Stunden,
70 " und 50-proz. bis nach 5 Minuten,
25 " bis nach 30 Minuten;
- ad 2) 99 " bis nach 12 Stunden,
70 " und 50-proz. bis nach 5 Minuten,
25 " bis nach 30 Minuten;
- ad 3) 99 " bis nach 12 Stunden,
70 " und 50-proz. bis nach 10 Minuten,
25 " bis nach 30 Minuten;
- ad 4) 99 " bis nach 5 Tagen,
70 " und 50-proz. bis nach 10 Minuten,
25 " bis nach 6 Stunden;
- ad 5) 99 " bis nach 12 Stunden,
70 " und 50-proz. bis nach 30 Minuten,
25 " bis nach 12 Stunden;
- ad 6) } dasselbe Verhalten wie bei Seidenfäden.
- ad 7) }

Die Untersuchung an feuchten Fäden ergibt:

bei *Subtilis*: Wachstum in jeder Konzentration bis nach 8 Tagen,
bei *Staphylococcus*: 99-proz. bis nach 6 Stunden,
80 " " " 1 Stunde,
70 " und 50-proz. bis nach 10 Minuten,
25 " bis nach 6 Stunden.

Aus diesen Ergebnissen zieht Untersucher die Schlüsse, daß bei 50- und 70-proz. Alkohol keine Differenz in der Wirkung besteht und

diese Konzentrationen die größte, während absoluter Alkohol die geringste bakterizide Kraft hat.

Weiter hat auch Senger (16) eingehende Untersuchungen über die Wirkung des Alkohols auf Mikroorganismen angestellt:

1) Er benutzte eine auf Glycerinagar frischgezüchtete Kultur von *Staphylococcus pyogenes aureus* aus einem Karbunkel, stellte von dieser eine Emulsion in sterilem Wasser her und legte sterile, 1 cm lange Holzstäbchen hinein. Darauf brachte er die Hölzchen durch 1 bis 20 Minuten in absoluten Alkohol, spülte sie in sterilisiertem, destilliertem Wasser ab, übertrug sie dann in Röhrchen mit Glycerinagar und setzte sie der Brüttemperatur aus. Nach 24 Stunden schon zeigten alle Röhrchen sehr üppiges Wachstum.

2) Alkohol wurde in einer Temperatur von 40° auf Kokken einwirken gelassen, wobei sich zeigte, daß sie auch nach 5 Minuten langer Wirkungsdauer nicht abgetötet waren.

3) Bei seinen Versuchen mit verschieden konzentriertem Alkohol zeigte es sich, daß bei 90-proz. von den Hölzchen, welche 1, 5 resp. 10 Minuten in Alkohol lagen, am 1. Tage, jedoch von denen, die 15 Minuten der Alkoholwirkung ausgesetzt waren, erst am 2. Tage Wachstum der Kokken eintrat. Bei 70-proz. Alkohol war die Lebensfähigkeit eingeschränkter, noch mehr bei 50-proz., etwas weniger bei 30-, 10- sowie bei 90-proz.

4) Zur Kontrolle der Ahlfeldschen Resultate wurden Versuche nach dessen Methode angestellt, die jedoch ganz ungleich ausfielen. Es trat allerdings anfangs Verzögerung, am 4.—5. Tage jedoch üppiges Wachstum ein. Daß in manchen Fällen nichts in den Röhrchen wuchs, führt Verf. auf ein mechanisches Abspülen der Bakterien im Alkohol zurück.

Auf Grund seiner Versuchsergebnisse zieht nun Senger folgende Schlüsse:

Er könne sich Ahlfelds Ansichten nicht anschließen, müsse aber zugeben, daß 50-proz. Alkohol am besten, wenn auch im allgemeinen der Alkohol nur mechanisch wirke, dadurch, daß er die Haut zum Eindringen des nachfolgenden Desinficiens vorbereite und nicht, wie Mikulicz meine, die Haut zusammenziehe, sie gerbe und das Eindringen des folgenden Desinficiens in tiefere Schichten verhindere.

Winkler (17) bestätigt Ahlfelds frühere Versuche und konstatiert, daß absoluter Alkohol in nur 11,17 Proz. der mit Bakterien auf trockenen Fäden angestellten Versuche, mit Bakterienaufschwemmungen aber in 100 Proz. wirksam war.

Ahlfeld (18) bespricht:

- a) Alkohol bei Haut- und Händedesinfektion, wobei er, gestützt auf neue Untersuchungen, seine alte Ansicht, daß Heißwasser-Seifenalkoholdesinfektion genüge, aufrecht erhält;
- b) Alkohol bei Sterilisierung des Nabelschnurrestes; er wendet 96-proz. mit gutem Erfolge an;
- c) Alkohol bei Behandlung inoperabler Bauchbrüche;
- d) intrauterine Ausspülungen mit Alkohol zur Verhütung und Bekämpfung der puerperalen septischen Endometritis; 50-proz. Lösungen ergaben gute Resultate;
- e) Alkohol bei Verhütung und Behandlung der Ophthalmoblennorrhoea neonat.; 50-proz. Alkohol wirkt schon bakterizid auf Gonokokken;
- f) Benutzung des Alkohols zur Sterilhaltung der Instrumente.

Weigl (19) hat sich mit der Lösung der Frage, in welcher Konzentration Alkohol am besten wirke, beschäftigt und folgende Versuchsreihen angestellt:

1) Er verwendete eine 48-stündige Bouillonkultur von Cholera und Staphylokokken in der Weise, daß er sie zu gleichen Quantitäten in sterile Röhrchen verteilte und nun tropfenweise durch 5 Minuten so viel Alkohol hinzufügte und zwar a) mit Schütteln, b) ohne zu schütteln, bis das Gemenge von Bouillon und Alkohol den gewünschten Prozentgehalt an Alkohol hatte. In Intervallen von $\frac{1}{4}$ —24 Stunden wurden davon 0,25 ccm mit einer sterilen Pipette entnommen und zu 20 ccm Bouillon hinzugefügt.

1) Cholera.

ad a) 90-proz. bis nach 2 Stunden Wachstum, nach 3 Stunden steril

80 " " " 1 Stunde " " 2 " "

ad b) 90 " " " 4 Stunden " " 5 " "

80 " " " 1 Stunde " " 3 " "

2) Versuche mit an Seidenfäden angetrockneten Staphylokokken: Auch hier wendete er verschiedene Untersuchungsmethoden an:

a) Der Faden wurde in Alkohol zuerst 5 Minuten geschüttelt;

b) der Faden lag ruhig im Alkohol;

c) der Faden wurde bis zur Uebertragung in Bouillon ununterbrochen im Alkohol geschüttelt.

ad a) 99-proz. und 96-proz. Wachstum nach 3-tägigem Verweilen

90 " Wachstum bis nach 30 Minuten

80 " " " 10 "

70 " " " 30 "

60 " " " 1 Stunde

50 " " " 1 "

25 " " " 3 Tagen

ad b) Die Ergebnisse sind etwas ungünstiger für die einzelnen Konzentrationen.

ad c) Verhält sich wie a).

3) Staphylokokken an feuchten Fäden werden in jeder der oben angeführten Konzentrationen nach 10 Minuten abgetötet.

4) Gegen Milzbrand erweist sich der Alkohol als unwirksam.

5) Schließlich seien noch die Versuche mit verschiedenen Desinfizienten, die Alkohol enthalten, erwähnt. Deren genaue Besprechung gehört nicht in den Rahmen dieser Arbeit.

Verf. zieht folgenden Schluß:

Alkohol hat bakterizide Eigenschaft in Konzentrationen von 90 und 80 Proz. besser als in niedrigeren.

Braatz (20) behauptet, daß Alkohol bei der Händedesinfektion hauptsächlich durch Luftverdrängung resp. Luftauflösung in den Poren der Haut und nur zum geringen Teile tödend auf Mikroorganismen wirke.

Baterelli (21) hält den 50-proz. Alkohol für die am besten sich eignende Konzentration; weniger kräftig seien schon 70- und 25-proz., fast ganz unwirksam 80-proz. und absoluter Alkohol.

Salzwedel und Elsner (22) setzten bei ihren Versuchen einer Nährbouillon 7-proz. Alkohol zu und fanden, daß er auf *Staphylococcus pyogenes aureus* entwicklungshemmend, 50-proz. abtötend wirke, während absoluter ihre Lebensfähigkeit nicht beeinflusse. Verff. bezweifeln daher die Ansicht, daß Alkohol durch Wasserentziehung auf Bakterien vernichtend wirke, denn erst durch Wasserzusatz oder durch

Feuchtigkeit des anzugreifenden Objektes erhalte er bakterizide Kraft. Stark eingetrockneter Eiter z. B. setzt stärkeren Widerstand entgegen, als wenn er vorher mit einer 1-proz. Seifenlösung erweicht ist.

Verff. stellen den Alkohol als Desinfektionsmittel — richtig angewendet — zwischen Sublimat und Karbolsäure.

Barsikow (23) stellte Untersuchungen mit Milzbrandsporen, *Staphylococcus pyogenes aureus*, *B. pyocyaneus* unter Anwendung verschiedener Alkoholkonzentrationen an. Er verwendete die Kochsche Methode mit Seidenfäden in trockenem und feuchtem Zustande; bei der letzterwähnten Versuchsreihe legte er die Fäden vorher auf 2 Minuten in steriles Wasser. Nach der Einwirkung des Alkohols wurden die Fäden in Wasser abgespült und in Bouillon übertragen. Für Staphylokokken und *Pyocyaneus* an trockenen Fäden ergaben sich folgende Resultate:

40–60-proz. Alkohol wirkt schon nach 2 Minuten dauernder Berührung bakterizid.

Wendet man Konzentrationen unter 40 Proz. und über 60 Proz. an, so nimmt man Abnahme der Wirkung wahr. Absoluter Alkohol ist selbst nach 5 Stunden unwirksam. Für obengenannte Bakterien an angefeuchteten Fäden zeigt sich:

Absoluter Alkohol wirkt in derselben Weise wie 40–60-proz. bei angetrockneten Mikroorganismen. Gegen Milzbrandsporen übt Alkohol in keiner Konzentration eine bakterizide Kraft aus.

Barsikow untersuchte weiter auch Methylalkohol auf seine Desinfektionsfähigkeit und erhielt dieselben Resultate wie mit gewöhnlichem Weingeist.

Frank (24) untersuchte die Desinfektionskraft von Alkoholdämpfen und fand, daß Dampfgemische zu 12 Volumprozent Wasser und 88 Volumprozent Alkohol am besten wirken, und glaubt, daß der Wasserdampf die Bakterienhülle besser durchdringe als das kalte Wasser und so die Mikroorganismen dann der desinfizierenden Wirkung des Alkohols resp. seiner Dämpfe leichter zugänglich mache.

v. Brunn (25) schließt sich auf Grund seiner Untersuchungen mit Alkoholdämpfen Franks Behauptungen an.

Buchner negiert eine besondere Desinfektionskraft des Alkohols und ist der Ansicht, daß er nur auf das Gefäßsystem wirke. Es entstehe Hyperämie, die die Mikroorganismen ungünstig beeinflusse.

Eine umfangreiche Arbeit veröffentlicht Wirgin (26) über den Desinfektionswert des Alkohols in Nährböden.

I. Die bakterientötende Wirkung untersucht er durch verschiedene Versuche an *Anthrax*, *B. typhi*, *B. coli*, *B. prodigiosus*, *B. pyocyaneus*, *Staphylococcus pyogenes aureus* und Diphtherie bei verschiedenen Züchtungstemperaturen (18°, 25°, 37°). Die Versuche mit *Anthrax* wurden mittels der Kochschen Methode, die anderen so angestellt, daß er zu 10 ccm einer Bouillon 8,5 Proz. Alkohol zusetzte und dann die Impfung mit 24-stündiger Bouillonkultur oben genannter Mikroorganismen vornahm.

Es ergab sich, daß bei 37° der Alkohol auf die einzelnen Arten stärker bakterizid wirkte als bei 25° und 18°, wenn auch einzelne Kulturen, z. B. *Staphylococcus pyogenes aureus*, erst nach 2 Tagen zu Grunde gingen. Dasselbe Resultat zeigten 7 und 5 Proz. Alkoholzusatz, während 4 und 3 weniger, 2 und 1 Proz. gar keinen Einfluß nahmen.

Auf Milzbrandsporen wirkt 8,5 Prozentgehalt nur abschwächend, jedoch mehr als auf das Auskeimen der Stäbchen.

Ein weiterer Versuch sollte die bakterizide Kraft des Alkohols durch Zusatz zu schon angegangenen (24-stündigen) Bouillonkulturen dartun, wobei dieselben Arten wie beim vorhergehenden angewendet wurden. Die Untersuchung ergab Entwicklungshemmung nach Einwirkung des 7-proz. Alkoholzusatzes durch 4—8 Tage; Coli und Diphtherie erwiesen sich am resistentesten.

Um auch numerisch die Anzahl der Keime, welche bei verschiedenen Prozenten an Alkoholzusatz zur Entwicklung kämen, darzutun, impfte Wirgin von je 10 ccm einer 24-stündigen Typhusbouillonkultur mit 1—5 Proz. Alkoholzusatz je 1 Oese in verflüssigten Agar und groß Platten. Die Zählung wurde unmittelbar nach dem Alkoholzusatz nach 10 und nach 100 Tagen vorgenommen, wobei sich zeigte, daß 5 Proz. nach 10 resp. 100 Tagen absolutes Absterben, 4 und 3 Proz. ein Abnehmen der Keimzahl in stärkerem, 2 und 1 Proz. in sehr geringem Maße bewirkten. Auch mit reichlich sporentragendem Anthrax wurde zu demselben Zwecke ein Versuch angestellt. Eine schwache Emulsion in 2 Röhrchen mit je 10 ccm destilliertem, sterilem Wasser und in 1 Röhrchen mit 10 ccm Bouillon wurde, um die Bacillen zu töten, durch 15 Minuten in Wasser von 65° untergetaucht und nun 1 Röhrchen von der Emulsion in Wasser und der in Bouillon mit je 1 ccm 94-proz. Alkohol versetzt, nach verschiedenen Zeiträumen 1 Oese in Gelatine übertragen und Platten gegossen.

Die Platten blieben bei 18° stehen und ihre Kolonien wurden nach 7—10 Tagen gezählt. Die Zahl der Keime nahm stets ab, so daß sie nach 50 Tagen Alkoholeinwirkung nur mehr den 50. Teil der Anfangszahl betrug. Allerdings zeigte es sich beim Versuche, daß Bouillon mit Alkohol ein besseres Konservierungsmittel zu sein scheint als destilliertes Wasser mit Alkohol.

II. Die Entwicklungshemmung durch Alkohol wurde durch folgende Versuche dargestellt:

1) Von einer 24-stündigen Bouillonkultur verschiedener Arten fügte Wirgin zu 10 ccm Bouillon je 1—3 Tropfen und Alkoholzusatze bis 8 Proz. bei und beobachtete die Proben durch 4 Monate bei verschiedenen Temperaturen (37°, 25°, 18—20°). Man konnte wahrnehmen, daß bei 37° durchschnittlich ein geringerer Alkoholprozentatz (5—6 Proz., nur bei Coli 7 Proz.), bei 25° ein schon höherer (7—8 Proz., bei *Staphylococcus pyogenes aureus*) und bei 18—20° ein noch etwas höherer zur Entwicklungshemmung nötig war. Bei 4,5 Proz. Alkoholzusatz kommen die beobachteten Bakterien noch zur Entwicklung.

2) Versuche mit anaëroben Bakterien, von Traubenzuckeragar abgenommen, in hoher Milchsicht bei 37° in Gegenwart von 8 Volumprozent Alkohol untersucht, zeigen, daß bei 8 Proz. die Entwicklung gehemmt war, bei 5 Proz. dagegen nicht; die Milch, die einen reichlich sporulierenden Buttersäurebacillus enthielt, vergor bei 1—3 Proz. Alkoholzusatz nach 24 Stunden, bei 5 Proz. nach 48 Stunden, blieb bei 8 Proz. selbst nach mehreren Monaten unverändert. Das Auskeimen der Sporen von *Penicillium glaucum* wurde durch 8 Proz. Alkoholzusatz in Rohruckerlösung verhindert und trat bei 5 Proz. verspätet ein.

Ein Versuch mit Anthrax-Sporen, aus einer 3 Wochen alten Agarkultur, überimpft in Bouillon mit 5 Proz. Alkoholzusatz, zeigte,

daß bei 37° das Auskeimen der Sporen gar nicht, bei allen anderen Temperaturen doch, wenn auch verspätet, zu stande kam; dabei war zu bemerken, daß derselbe Alkoholprozent das Auskeimen der Sporen mehr hemmt als das Wachstum der Bacillen.

3) Um die Wachstumsenergie bei verschiedenen Temperaturen zu beobachten, wurden Röhrchen von gleicher Weite mit je 10 ccm Bouillon mit je 1 Oese von verschiedenen Kulturen geimpft. Bei 37° zeigt sich das Wachstum schon in den ersten Tagen kräftig, bei 25° erreicht es erst nach mehreren Tagen dieselbe Dichte, um bei 18° deutlich zurückzubleiben.

Wurde die Nährbouillon mit Alkohol (5- oder 6-proz.) versetzt, so wuchsen Typhus und Pyocyaneus bei 37° schlechter als bei 20°, Pyogenes aureus und Diphtherie aber umgekehrt. Bei längerer Beobachtung (14–60 Tage) änderte sich das Verhältnis in entgegengesetzter Weise. Numerisch bestimmt durch Plattengießen und Keimzählung ergab sich bei 37° für Typhus in gewöhnlicher Bouillon zuerst ein Aufsteigen, dann ein rapides Sinken der Keimzahl, ebenso bei 33°. Bei 25° war schon am 2. Tage eine bedeutende Keimzahl zu konstatieren, die dann noch weiter anstieg, um endlich langsam abzunehmen. Eine Temperatur von 18° zeigte ähnliche Verhältnisse wie bei 25°, nur daß das Maximum kleiner und etwas mehr verschoben war.

Bei Nährbouillon mit 5 Proz. Alkoholzusatz (analoger Versuch) blieb das Wachstum bei 37° aus, bei 33° kam es zu kümmerlicher Vegetation, etwas reichlicher keimten die Bacillen bei 25°, während bei 18° zuerst spärliches, dann kräftigeres Wachstum (so dicht ungefähr wie bei 25°) zu sehen war.

4) Bei 3 Proz. Alkoholzusatz gedieh *B. typhi* bei 37° schlechter als bei 20° am 1. Tage, während am 6. Beobachtungstage ein umgekehrtes Verhältnis zu sehen war.

5) Die Säurebildung von *B. coli* in Traubenzuckerbouillon bei 5 Proz. Alkoholzusatz, beobachtet bei 37° und 20°, ergab dieselben Resultate wie im vorhergehenden Versuch.

Aus diesen Versuchen schließt Wirgin:

Kommt in einer mit Alkohol versetzten Kultur bei 37° Entwicklung zu stande, wird dies auch bei hinreichend langer Beobachtungsdauer bei Zimmertemperatur geschehen. Setzt man Alkohol in immer höheren Prozenten zu Nährböden zu, so kann bei höherer Temperatur vollständige Hemmung eintreten, während bei Zimmertemperatur Wachstum noch erscheint.

III. Die wachstumsbeschränkende Wirkung von Alkohol wurde durch 1) makroskopischen Vergleich zwischen der Dichtigkeit der in Bouillon mit oder ohne Alkoholzusatz gewachsenen Kulturen;

2) Abschätzen der Bakterienmenge nach Zentrifugieren der Kulturen;

3) Bestimmung der bei Alkoholzusatz gebildeten Säure durch Titrieren;

4) Bestimmung der Zahl der lebenden Bakterien durch Plattenzählung konstatiert.

Als Resultat der Versuche teilt Verf. mit: Alkohol in niedrigen Prozenten übt eine schwache Wirkung aus. In 1-tägigen Kulturen sind die Unterschiede der Hemmungswirkung verschiedener Alkoholprocente am deutlichsten. Selbst ganz schwache (0,1 Proz.) hemmen, wenn auch ganz wenig. In der Nähe derjenigen Alkoholprocente, wo völlige Ent-

wicklungshemmung eintritt, nimmt die wachstumbeschränkende Wirkung rasch ab.

Es wurde weiter von Wirgin auch dargetan, daß

IV. Alkohol ein wachstumbegünstigendes Mittel für Mikroorganismen sein kann.

Diesbezüglich stellte er folgende Versuche an:

1) Einwirkung von Alkohol auf das Wachstum von Essigbakterien in Würze mit einem Extraktgehalt von 15 Proz. bei 18 und 20°. War Alkohol zugesetzt, so wuchsen die Bakterien bei längerer Beobachtungsdauer besser (am besten bei 3—5 Proz.).

2) Zu 1000 ccm Leitungswasser wurde 1 ccm Bouillon zugefügt und bei 120° 5 Minuten lang gekocht, davon Röhrchen mit je 10 ccm angefüllt, mit 1 Oese von frischer Kultur von *B. fluorescens liquefaciens* geimpft und 1—8 Tropfen Alkohol (94-proz.) zugesetzt (1 Tropfen = 1,5-prom. Alkoholzusatz). Die Kontrolle blieb steril, die mit Alkohol versetzten Röhrchen zeigten, wenn auch verspätet, Wachstum (am besten das mit 3 Tropfen).

3) 100 ccm sterilen Leitungswassers wurden mit 15 Tropfen einer 24-stündigen Bouillonkultur von *B. pyocyaneus* geimpft, je 10 ccm in ein Röhrchen gefüllt und 1—10 Tropfen 94-proz. Alkohol zugefügt. Nach 4 Tagen wurde von jeder Probe 1 Oese in verflüssigten Agar übertragen und Platten gegossen. Die Zählung der Keime ergab in der Kontrolle weniger Kolonien als auf den Platten aus der Kultur mit 1—3 Tropfen Alkoholzusatz.

Verf. ist der Ansicht, daß vielleicht geringe Mengen Alkohol den Bakterien eher als Nahrung dienen, entgegen der Ansicht anderer Autoren, die den Alkohol als „Stimulans“ bezeichnen.

VI. Nach Pasteur beschäftigte sich Hansen hauptsächlich mit der Variation der Mikroorganismen. Wirgin gelang es durch Züchtung von sporenhaltigem Anthrax auf Agar mit 4,5 Proz. Alkoholzusatz bei wiederholtem Ueberimpfen auf gleichartige Nährböden einen asporogenen Stamm herzustellen, der in seinen biologischen Eigenschaften sich von dem sporogenen nur durch wenige Merkmale unterschied. Bei einem Stamm von *B. subtilis* war es trotz analoger Anwendung der Roux'schen Karbolmethode bei Alkoholzusatz nicht möglich, einen asporogenen Stamm zu erzeugen.

Pigmentbildung wird von kleinsten Mengen Alkohol eingeschränkt, kehrt aber, wenn der Stamm auf gewöhnlichen Agar überimpft wird, wieder zurück.

Als letztes Kapitel seiner Arbeit teilt Wirgin seine Versuche „Ueber die Einwirkung von Alkohol auf Bakterien in Bier und Würze“ mit.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ein Beitrag zur Wirkungsweise lytischer Immunkörper (Ambozeptoren).

[Aus dem kgl. hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr.
Direktor: Prof. Dr. R. Pfeiffer.]

Von Privatdozent Dr. E. Friedberger, I. Assistenten des Instituts.

Ueber die komplexe Natur des Bakteriolytins und Hämolytins, d. h. die Zusammensetzung dieser Körper aus 2 Komponenten — einem hitzebeständigen Ambozeptor und einem thermolabilen Komplement — herrscht heute auf dem Gebiete der Immunitätsforschung im wesentlichen Uebereinstimmung. Dagegen stehen sich bezüglich der Art der Einwirkung dieser beiden Körper speziell bezüglich der Wirkungsweise des Ambozeptors auf das zu lösende Element (Bakterienzelle oder Blutzelle) 2 Anschauungen diametral gegenüber. Ehrlich und seine Schule vertreten die Auffassung, die in der bekannten, geistvollen Seitenkettentheorie Ehrlichs zum Ausdruck kommt, daß das Bakterium nur den hitzebeständigen Ambozeptor verankert und daß dieser wiederum vermöge einer zweiten haptophoren Gruppe das thermolabile Komplement, das das eigentliche auflösende Prinzip ist, an sich bindet. Ohne Ambozeptor vermag nach Ehrlich niemals das Komplement an das Bakterium heranzutreten, und überhaupt greift es an keiner anderen Stelle ein, als an der komplementophilen Gruppe des Ambozeptors. Der ganze Vorgang der Auflösung ist, wie Pfeiffer zum erstenmal scharf hervorgehoben hat und wie auch Ehrlich annimmt, ein enzymatischer. „Da unter dem Einfluß des Addiments Erscheinungen auftreten, die man mit Pfeiffer als der Verdauung analog ansehen muß, so werden wir nicht fehlgehen, wenn wir dem Addiment den Charakter eines Verdauungsfermentes vindizieren.“ (Ehrlich und Morgenroth, Ueber Hämolytine. I. Mitt. Gesammelte Arbeiten von Ehrlich. p. 12.)

Durch die Verankerung des Ambozeptors allein erfährt die betreffende Zelle keine Schädigung.

Diese Anschauung hat bereits R. Pfeiffer, dem wir die ersten und zugleich grundlegenden Untersuchungen über die Wirkungsweise der Immunkörper verdanken, ausgesprochen. Er hat schon in seinen ersten Arbeiten über diese Frage betont, daß ein spezifisches Immunserum an sich die Bakterien in keiner Weise alteriert, daß sie in demselben üppig wachsen und überhaupt keine nachweisbare Aenderung ihrer vitalen Eigenschaften erfahren (über das Verhalten der Virulenz unter diesen Bedingungen vergl. allerdings die Arbeit R. Pfeiffers zur Theorie der Virulenz; Festschr. z. 60. Geburtstag R. Kochs). Die auffallende Erscheinung, daß ein Immunserum, das in stärkster Verdünnung noch im Tierkörper Millionen von Choleravibrionen zur Auflösung brachte in vitro auch in viel höherer Konzentration unwirksam war, hatte R. Pfeiffer zu der Annahme von der komplexen Natur des Bakteriolytins geführt, eine Annahme, die dann Ehrlich auf Grund der Ergebnisse Bordets und Metschnikoffs sowie eigener umfassender Untersuchungen mit hämolytischen Blutseris zur Aufstellung seiner eben skizzierten Theorie geführt hat.

Der Auffassung Ehrlichs über die Wirkungsweise des Ambozeptors

steht eine andere diametral gegenüber, die von Bordet begründet, von Buchner, Gruber und in gewissem Sinne auch von Baumgarten mit großer Hartnäckigkeit verteidigt wird, trotzdem die Ehrlichsche Schule eine große Reihe von Experimenten zur Stütze ihrer Theorie beigebracht hat.

Bordet teilt dem Ambozeptor, nicht wie Ehrlich, die Rolle eines Zwischenkörpers zu, der nur als Ueberträger des Komplementes dient, sondern er nimmt an, daß der Ambozeptor die Funktion hat, eine, allerdings spezifische, Schädigung des Bakteriums zu veranlassen und es damit für die Wirkung des Komplementes empfindlich zu machen, das seinerseits nunmehr nicht auf dem Umweg über den Ambozeptor, sondern direkt an das Bakterium herantritt. Auf Grund dieser Auffassung wählt Bordet für den Ambozeptor die Bezeichnung „Substance sensibilitrice“. Er vergleicht die Substance sensibilitrice mit dem Sicherheitsschlüssel in einem Sicherheitsschloß, nach dessen Einführung erst der eigentliche Schlüssel (das Komplement) in Aktion tritt. An anderer Stelle vindiziert er dem Ambozeptor eine Rolle, wie sie die Beize bei der Färbung spielt. (Dieser Vergleich ist insofern nicht zutreffend, als nach Ehrlich der Beize beim Färbeprozess gerade eine Funktion zukommt, die der des Ambozeptors im Ehrlichschen Sinne entspricht.)

Die Bordetsche Auffassung wird besonders warm von Gruber verteidigt, der auf Grund der gleichen Anschauung für den Ambozeptor die Bezeichnung „Präparator“ gewählt hat. Die spezifische Wirkung beruht nach ihm darauf, daß die betreffenden Zellen zunächst den Antikörper aufnehmen und dadurch dem Alexin zugänglicher werden, das von ihnen irgendwie aufgenommen und gebunden wird und die Zersetzung ihres Plasmas einleitet.

Den fermentativen Charakter des Auflösungsprozesses stellt Gruber in Abrede, da er niemals nach Ablauf der Einwirkung eines aktiven Immunserums Produkte nachweisen konnte, die einer proteolytischen Verdauung entsprechen. Die Veränderung der Bakterien bei der Bakteriolyse tragen nach ihm den Charakter von plasmolytisch-osmotischen Prozessen. In dieser Hinsicht begegnen sich die Grubersche Auffassung mit der Baumgartens, der vor allen Dingen auf Grund hämolytischer Versuche zunächst seine für die Bakteriolyse aufgestellte Theorie aufs neue zu festigen suchte und die Hämolyse im heterologen Serum mit der Hämolyse in anisotonischer Kochsalzlösung identifizierte. Die Inaktivierung des Serums durch Erwärmen auf 55 Grad führte er früher auf eine Aufhebung der Anisotonie infolge Umlagerung freier Salz-moleküle oder infolge Freiwerdens zuvor gebundener Moleküle zurück.

Später ist allerdings Baumgarten insofern der Ehrlichschen Anschauung wesentlich nähergetreten, als er doch als entscheidendes ursächliches Moment für die Auflösung die Einwirkung spezifischer Stoffe im Sinne Ehrlichs annimmt. Durch die Verankerungen der spezifischen Stoffe aber wird nach seiner Meinung, ähnlich wie Gruber das annimmt, die Resistenz der beladenen Elemente herabgesetzt, ihre Permeabilität geändert, so daß sie „das in ihnen enthaltene Wasser leichter austreten, Salz leichter eintreten lassen, als unter normalen Verhältnissen.“ (Berl. klin. Wochenschr. 1902. p. 998.)

Nach der Theorie Bordet, vor allem aber nach der Auffassung, die Gruber und Baumgarten vertreten, erfährt also das Bakterium durch die Verankerung des Ambozeptors (Präparators) eine zwar spezifische, aber doch allgemein wirkende Schädigung und Schwächung seiner

Widerstandsfähigkeit, während nach Ehrlich-Pfeiffer die Verankerung des Ambozeptors an sich noch in keiner Weise die Integrität des Bacillenleibes tangiert.

War diese Ehrlich-Pfeiffersche Anschauung richtig, so dürfte ein Bakterium, das sich mit spezifischem Ambozeptor beladen hatte, gegenüber Schädigung chemischer oder physikalischer Natur sich nicht anders verhalten, wie ein ambozeptorfrees. Anders ist es nach der Auffassung Baumgartens, Grubers und auch Bordets. Nach ihnen bedeutet die Verankerung des Ambozeptors an das Bakterium bereits eine Schädigung seiner vitalen Energie, und es war zu erwarten, daß danach mit Ambozeptor beladene Bakterien gegenüber chemisch und physikalisch schädigenden Einflüssen weniger resistent, gewissermaßen minderwertiger sich erwiesen, im Vergleich zu normalen.

Um diese Frage zu entscheiden, habe ich gleiche Mengen normaler und mit inaktiviertem Immunserum beladener Cholerabakterien der Einwirkung des Sublimates hoher Temperatur und verschiedenen prozentiger Kochsalzlösung unter sonst absolut gleichen Bedingungen ausgesetzt.

Die Sublimatversuche sollten als Prototyp für den Einfluß einer rein chemischen Schädigung, die Versuche mit erhöhter Temperatur als solcher einer rein physikalischen, die Kochsalzversuche endlich als Prototyp einer osmotischen Schädigung dienen.

Die Versuche wurden mit Choleravibrionen und einem Kaninchen-Choleraimmunserum angestellt, das einen Titer von unter $\frac{1}{5}$ mg besaß. In den Kontrollversuchen wurde normales Kaninchenserum benutzt. Beide Arten von Kaninchenserum waren durch $\frac{3}{4}$ stündige Erwärmung auf 55° inaktiviert.

Das normale sowohl wie das Immunserum wurden in gleichen Verdünnungen mit gleichen Mengen einer virulenten Cholerakultur versetzt, und die Emulsionen kamen alsdann, um die Absorption des Ambozeptors zu beschleunigen für einige Zeit in den Brutschrank von 37° ; es wurde darauf abzentrifugiert und gleiche Dosen der abzentrifugierten Bakterien den schädigenden Einflüssen unterworfen. Die Schädigung wurde mittels der Plattenmethode demonstriert,

Diese im vorliegenden Fall einzig brauchbare Methode scheint zunächst insofern eine nicht unbeträchtliche Fehlerquelle in sich zu schließen, als die Agglutination der Bakterien in dem einem Fall (durch das Immunserum) eine Verminderung der Keime vorzutauschen geeignet war, da ja hier mehr Einzelindividuen wie im Normalserumversuch den Grundstock einer Kolonie bilden dürften.

Es kam mir daher zunächst schon sehr zu statten, daß die von mir benutzte Kultur relativ agglutinationsresistent war und durch das inaktive Immunserum in der benutzten Verdünnung von 1:100 nur noch in eben sichtbaren kleinsten Häufchen zusammengeballt wurde.

Dadurch, daß ich diese Emulsion — natürlich in gleicher Weise auch die Kontrollemulsion mit Normalserum — vor jeder Entnahme von Aussaatmaterial kräftig schüttelte, suchte ich diese Ungleichheit zwischen den beiden Emulsionen weiter zu verringern.

Die erwähnte Fehlerquelle wäre schließlich auch nur dann von Bedeutung gewesen, wenn die mit Ambozeptor beladenen Bakterien im Verlauf des Versuches sich scheinbar als weniger resistent erwiesen hätten, so daß bei Aussaat gleicher Mengen von diesen weniger Kolonien zur Entwicklung gekommen wären als von den normalen. Dann hätte

dieser Befund auf den durch die Agglutination bedingten Fehler in der Methode zurückgeführt werden können.

Es sei aber hier schon vorausgreifend bemerkt, daß eine derartige Differenz nicht vorhanden war, so daß der Einwand, der in diesem Sinn gegen die Versuchsanordnung gemacht werden könnte, hinfällig ist.

Zudem konnte die Agglutination wohl im Verlauf des Prozesses Ungleichheiten in der Keimzahl bedingen, konnte aber bezüglich des Termins der endgültigen Abtötung aller Keime kaum einen nennenswerten Einfluß haben.

Es sei nun im nachstehenden Methode und Resultat der einzelnen Versuche kurz geschildert.

1) Sublimatversuche.

Je 4 ccm einer Verdünnung 1:100 des Normal- resp. Immunkaninchenserums werden mit je 2 Oesen einer virulenten 18-stündigen Cholera-agarkultur versetzt und 30 Minuten zur Verankerung des Ambozeptors im Hauptversuch in den Thermostaten von 37° gebracht.

Nach dieser Zeit wurden die Emulsionen kräftig zentrifugiert, bis die obenstehende Flüssigkeit absolut klar war. Diese wurde abgegossen und die am Glas haftenden Reste der Serumverdünnung wurden mit Fließpapier sorgfältig abgetupft. Um auch die letzten Reste anhaftenden Serums zwischen den Bakterien zu entfernen, wurde nochmals jeder Bodensatz in 4 ccm 0,8-proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt, abermals zentrifugiert und alsdann in je 5 ccm 0,8-proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt und kräftig geschüttelt.

Je Mengen von 0,1 dieser beiden Emulsionen wurden zu gleichen Mengen (2 ccm) verschiedener Sublimatverdünnungen zugesetzt. Nach 5 Minuten langem Kontakt wurde je eine Oese aus den einzelnen Röhrchen in verflüssigten Agar geimpft und zu Platten gegossen.

Die Platten wurden nach 36-stündiger Bebrütung bei 37° gezählt. Es ergab sich kein Unterschied in der mit Zunahme der Sublimatverdünnung fortschreitenden Zahl der Keime auf den mit normalen und beladenen Keimen geimpften Platten. Bis zur Verdünnung 1:400 000 waren beide Serien steril. In den folgenden Verdünnungen zeigte sich fortschreitende Zunahme der Keimzahl, jedoch ohne ausgesprochene Differenz zwischen beladenen und unbeladenen Keimen. In einzelnen Fällen waren etwas mehr von diesen, in anderen etwas mehr von jenen aufgegangen.

Bei genau der gleichen Verdünnung erfolgte alsdann die unendliche Zunahme der Bakterien in beiden Serien.

Die Resultate eines derartigen Versuches zeigt die folgende Tabelle I.

Tabelle I.

Sublimatverdünnung	Zahl der Kolonien	
	Cholera-vibrien mit Immunserum beladen	Cholera-vibrien mit Normalserum beladen
1:200 000	0	0
1:400 000	0	0
1:800 000	150	85
1:1 600 000	30	106
1:3 200 000	100	54
1:6 400 000	ca. 1 500	2 000
1:12 800 000	∞	∞
Kontrolle	∞	∞

Eine Reihe derartiger Versuche verlief stets mit dem gleichen Resultat, es ergibt sich also daraus die Tatsache, daß Choleravibrionen durch die Absorption des spezifischen Ambozeptors eines Choleraimmunserums nicht empfänglicher für den schädigenden Einfluß eines chemischen Desinficiens (des Sublimates) werden.

2) Versuch mit höheren Temperaturen.

Es wurden in gleicher Weise, wie es im vorhergehenden Versuch beschrieben ist, Emulsionen der Bakterien in Normal- bzw. Immunserumverdünnung 1:100 angelegt. Von einer vorherigen Waschung und Entfernung der im Sublimatversuch störenden Serummengen konnte hier Abstand genommen werden, deshalb kamen die Emulsionen direkt in ein Wasserbad von der bestimmten Temperatur.

Alle 5–10 Minuten wird von beiden Emulsionen nach kräftigem Durchschütteln 1 Oese auf der Oberfläche eines Agarröhrchens sorgfältig verteilt.

Tabelle II. Versuch bei 51–52°. Beginn 11 Uhr 30 Min.

Zeit	Zahl der Kolonien	
	aus den mit Immunserum beladenen Bakterien	aus den mit Normalserum beladenen Bakterien
11 ⁴⁰	∞	∞
12 ⁰⁰	∞	∞
12 ¹⁰	35	13
12 ²⁰	4	5
12 ³⁰	1	2
12 ⁴⁰	1	0
12 ⁴⁵	0	0

Auch in diesem Versuch ist in völliger Uebereinstimmung mit dem vorausgeschilderten keine schnellere Abtötung der beladenen Keime eingetreten. Wiederum ist die progressive Abnahme in beiden Serien die gleiche. Der Versuch wurde mehrmals bei etwas höherer oder niedriger Temperatur wiederholt, stets mit dem gleichen Resultat.

Wir kommen also zu dem Schluß, daß durch Verankerung spezifischer Ambozeptoren die Resistenz der betreffenden Bakterien auch gegenüber thermischen Einflüssen keine nachweisbare Einbuße erleidet.

3) Versuch mit konzentrierter Kochsalzlösung.

Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe schienen mir, wegen der Eingangs geschilderten Theorie Baumgartens und Grubers, von besonderem Interesse zu sein. War die Anschauung der genannten Autoren richtig, so mußte hier wenigstens der deletäre Einfluß des „Präparators“ sich offenbaren.

Zur Entscheidung dieser Frage wurden in analoger Weise, wie in den vorhergehenden Versuchen Choleravibrionen einerseits mit normalem, andererseits mit spezifischem Kaninchenserum in 0,8-proz. Kochsalzlösung zusammengebracht und nach 1/2-stündigem Kontakt zentrifugiert.

Die Bakterienrückstände wurden dann in gleiche Mengen konzentrierter Kochsalzlösung eingebracht und durch Verimpfung je einer Oese auf Agar wurde die fortschreitende Zerstörung der Vibrionen ermittelt.

Auch hier ergab sich in den Versuchen mit hochprozentiger Kochsalzlösung keine Differenz bezüglich der Entwicklungshemmung und schließlich gänzlichen Vernichtung zwischen beladenen und unbeladenen Vibrionen.

Tabelle III. Versuch mit 12-proz. NaCl-Lösung.

Zeit	Zahl der Kolonien	
	von den mit Immunserum beladenen Bakterien	von den mit Normalserum beladenen Bakterien
Beginn des Versuchs:		
12 Uhr	∞	∞
1 "	sehr viel Kolonien	ebenso
3 "	ziemlich viel deutlich isolierte Kolonien	"
4 "	desgl.	etwas mehr
5 "	"	ebenso
6 "	"	etwas weniger
7 ³⁰ "	Abnahme	ebenso
8 ³⁰ "	vereinzelte Kolonien	"
9 ³⁰ "	desgl.	"
10 ³⁰ "	0	0

Es schien mir nun nicht uninteressant, die Versuche in analoger Weise wie mit Bakterien und bakteriziden Seris so auch mit Blutkörperchen und hämolytischen Seris zu wiederholen.

Die Lebenseigenschaften und das biologische Verhalten der Erythrocyten gestatteten in diesem Fall nicht, Versuche mit Sublimatlösung oder hohen Temperaturen anzustellen. Dagegen erschienen die Erythrocyten als ein Demonstrationsobjekt par excellence, wo es sich darum handelte, Differenzen in dem Einfluß osmotisch wirkender Schädlichkeiten auf beladene und unbeladene Zellen zu studieren. Es wurden deshalb die Versuche mit Blutkörperchen ausschließlich in dieser Richtung hin unternommen.

Ich benutzte als Blutkörperchen in diesen Versuchen Ziegenerythrocyten als Serum: 1) das spezifische Serum eines mehrfach mit Ziegenblutkörperchen vorbehandelten Kaninchens, das in Verdünnung 1:2000 noch fast komplette Lösung der Ziegenerythrocyten hervorrief, 2) normales Kaninchenserum. Beide Sera waren inaktiviert. Die vollständige Inaktivierung wurde durch entsprechende Kontrollversuche nachgewiesen.

Es wurde in gleicher Weise, wie das in früheren Versuchen geschildert ist, zunächst den Erythrocyten Gelegenheit gegeben, die Ambozeptoren zu verankern. Zu dem Zweck kamen Aufschwemmungen von je 2 ccm defibrinierten Ziegenblutes in 8 ccm einer Immun- resp. Normalserumverdünnung 1:100 3 Stunden in den Brutschrank bei 37°. Die Emulsionen wurden wiederholt geschüttelt. Danach kamen je 0,2 dieser Emulsionen (Normal- resp. Immunserum) zu je 1 ccm verschiedener Kochsalzlösungen von steigender Konzentration. Die Röhrchen kamen dann auf 2 Stunden in den Brutschrank und wurden danach auf Hämolyse untersucht. Es zeigte sich keine Differenz zwischen den mit Immunserum behandelten und den anderen Erythrocyten bezüglich der Einwirkung hypertotonischer und hypotonischer Salzlösungen (s. Tab. IV).

Nun haben allerdings v. Baumgarten und Dömeni die Beobachtung gemacht, daß mit Ricin beladene Blutkörperchen in genau isotonischen Salzlösungen sich normal verhalten, dagegen bei den geringsten Störungen der Isotonie ihr Hämoglobin in weit höherem Grade austreten lassen, als normale.

Diese Befunde stehen mit den meinigen nur scheinbar im Widerspruch. Das Ricin ist ein Körper ganz anderer Natur als der Ambozeptor eines Immunserums. Es ist ein echtes Toxin, das wohl die

Tabelle IV.

Konzentration der NaCl- Lösung in %	Grad der Hämolyse	
	der mit Immun- serum beladenen Erythrocyten	der mit Normal- serum beladenen Erythrocyten
0,5	komplett	komplett
0,60		
0,70	fast „komplett	fast „komplett
0,75	deutlich	deutlich
0,775	Spur	Spur
0,80	0	0
0,825	0	0
0,85	0	0
0,875	0	0
0,90	0	0
0,925	0	0
0,95	0	0
0,975	0	0
1,0	0	0
2,0	0	0
4,0	0	0
8,0	0	0

Blutkörperchen primär so weit zu schädigen vermag, daß nun bei der geringsten Alteration diese Schädigung eben im Austreten des Häoglobins in Erscheinung tritt. Es ist aber nicht angängig, aus diesen Versuchen mit einem Toxin, wie das Baumgarten und Dömini tun, Schlüsse zu ziehen bezüglich der Wirkungsweise des Ambozeptors eines cytolytischen (bakteriolytischen) Serums.

Meine Versuche dürften dazu geeignet sein, die Anschauung von der Schädigung eines Bakteriums bzw. einer Zelle durch die bloße Verankerung eines spezifischen Ambozeptors zu widerlegen und für die Richtigkeit der Pfeiffer-Ehrlichschen Auffassung über die Fermentnatur des Ambozeptors zu sprechen.

Zum Schluß danke ich meinem hochverehrten Lehrer und Chef, Herrn Professor R. Pfeiffer, für das rege fördernde Interesse, das er diesen Untersuchungen entgegengebracht hat.

Nachdruck verboten.

Ueber den Verbleib der bakteriolytischen Immunkörper im tierischen Organismus nach der passiven Immunisierung.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr.]

Von **R. Pfeiffer** und **E. Friedberger**.

Die passive Immunisierung hat vor der aktiven den zweifellosen Vorteil, daß sie unmittelbar nach der Injektion des spezifischen Serums im Körper einen für viele Fälle zureichenden Schutz verleiht. Es ist das eine Tatsache, die die Verwendung eines Immunserums zu Heilzwecken erst ermöglicht. Eine aktive Immunisierung kann hier überhaupt nicht in Betracht kommen, da ja bekanntermaßen von der Einspritzung des Vaccins geraume Zeit bis zur Bildung des spezifischen von Schutzstoff vergeht. Der Nachteil der passiven Immunisierung aber beruht darin, daß der schnell eintretende Schutz auch wieder schnell ver-

9*

schwindet, während er bei der aktiven Immunisierung, wie bereits erwähnt, relativ spät eintritt, aber dafür auch bedeutend dauerhafter ist. Untersuchungen über die Dauer des Schutzes bei passiver Immunität sind namentlich in Bezug auf antitoxische Sera von einer Reihe von Autoren angestellt. Tizzoni und Catani¹⁾ impften Kaninchen mit gleichen Dosen antitoxischen Serums von Pferd, Hund und Kaninchen und fanden nach 15 Tagen bei den mit Pferdeserum vorbehandelten Tieren keine Spur von Antitoxin mehr, bei den mit Hundeserum vorbehandelten war fast alles Antitoxin bereits nach 15 Tagen geschwunden, dagegen besaßen die Kaninchen, die mit Antitoxin von Kaninchen vorbehandelt waren, noch ihren vollen Schutzwert und zeigten nach 21 Tagen erst eine geringe Abnahme.

Passini²⁾ fand bei einer mit 200 I.-E. Diphtherieantitoxin intravenös geimpften Ziege 30 Minuten nach der Injektion noch fast das ganze Antitoxin, nach 3 Tagen nur noch wenig Antitoxin und nach 6 Tagen nichts mehr davon im Serum. Der Versuch verlief in gleicher Weise, wenn die Injektion subkutan erfolgte. Von besonderer Wichtigkeit erscheint ein analoger Versuch mit einem Pferd, wo (also bei Injektion homologen antitoxinhaltigen Serums) die Antikörper in gleicher Weise verschwanden. Beim Menschen ließen sich nach der Injektion von Antitoxin am 6. Tage nur noch Spuren, nach 11—12 Tagen nichts mehr nachweisen. Loos³⁾, der gleichfalls Versuche über das Verschwinden des eingespritzten Antitoxins im Körper von Menschen anstellte, kommt zu dem Schluß, daß bei Injektion von 200 I.-E. sich zwar nach 14 Stunden noch Antitoxin nachweisen lassen, daß aber bei Injektion von 150 I.-E. nach 24 Stunden bereits die Antikörper verschwunden sind.

Müller⁴⁾, der vom gleichen Gesichtspunkte aus analoge Versuche angestellt hat, fand, daß bei Injektion von 250 I.-E. das Antitoxin spätestens noch nach 6 Tagen, bei 1000 I.-E. spätestens noch nach 7—9 (in einem Falle noch nach 17) Tagen nachweisbar war. Bei Injektion von 5000 I.-E. war Antitoxin spätestens noch nach 31 Tagen nachweisbar, in einem Falle war es bereits auch hier nach 14 Tagen verschwunden. In einem Versuche, in dem bei Injektion von 250 Einheiten der Schutz völlig verschwunden war, wurden am 21. Tage nach der Injektion nochmals 250 I.-E. gegeben; in diesem Falle erhielt sich der Schutzwert des Serums bedeutend länger, denn es ließen sich noch 28 Tage nach der zweiten Injektion Antitoxine im Blutserum nachweisen. Im allgemeinen zieht Müller aus seinen Versuchen in Uebereinstimmung mit Löhr⁵⁾ den Schluß, daß der passive Schutz nach der Injektion von Diphtherieantitoxin beim Kinde höchstens auf 3 Wochen anzusetzen sei.

Bomstein⁶⁾ konnte bei Versuchen an Hunden und Meerschweinchen das schnelle Verschwinden von Antitoxinen aus der Blutbahn nachweisen; schon am 2. Tage war mehr als die Hälfte des Antitoxins beim Hunde aus dem Blute verschwunden, sowohl bei subkutaner als intravenöser Injektion. Ein völliges Verschwinden trat gewöhnlich am 15. bis 18. Tage ein. Analoge Verhältnisse zeigten sich beim Meerschweinchen, das pro Gramm 50 Antitoxineinheiten erhielt.

1) Berl. klin. Wochenschr. 1896. p. 1186.

2) Passini, Wien. klin. Wochenschr. 1896. No. 48. p. 1111.

3) Loos, Jahrb. f. Kinderheilk. N. F. Bd. XLII. 1896. p. 360.

4) Müller, Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. XLIV. 1897. p. 394.

5) Löhr, Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. XLIII. p. 67.

6) Bomstein, Centralbl. f. Bakt. I. Abt. 1897.

In neuester Zeit haben Kraus und Joachim¹⁾ ähnliche Versuche an Kaninchen und Meerschweinchen angestellt, sie fanden bereits nach einer Stunde große Verluste an Antitoxin, die zwischen 15—61 % bei den einzelnen Versuchstieren schwankten.

Vagedes²⁾ und Nocard³⁾ konnten bezüglich des Tetanusantitoxins die kurze Dauer einer passiven Immunisierung bestätigen.

Ransom⁴⁾ stellte Untersuchungen an, besonders in der Richtung, ob ein Unterschied bei der passiven Immunisierung besteht, je nachdem man zur Injektion homologes oder artfremdes Serum benutzt, eine Fragestellung, auf die bereits Catani und Tizzoni eingegangen waren. Er fand, daß beim Pferd die passive durch homologes Antitoxin übertragene Immunität nicht wesentlich schneller abklingt, als eine entsprechend hohe aktive Immunität.

Untersuchungen über den Verbleib der Agglutinine wurden von Jörgensen und Madsen⁵⁾ angestellt. Sie fanden das Agglutinin einer Ziege relativ schnell aus der Blutbahn von Katzen und Kaninchen verschwinden, während Agglutinin des Kaninchens ziemlich lange im Blut des Kaninchens nachweisbar ist. Agglutinine des Kaninchens oder der Ziege in die Blutbahn einer Ziege gebracht, verbleiben dort gleich lange. Auch Kraus und Joachim haben in der bereits zitierten Arbeit Versuche mit Agglutininen angestellt und gefunden, daß Typhusagglutinine des Kaninchens im Kaninchenorganismus bereits nach 1 Stunde zum großen Teil nicht mehr nachweisbar sind.

Ueber das Schicksal der passiv einverleibten bakteriolytischen Immunkörper sind unseres Wissens bisher ähnliche Untersuchungen noch nicht angestellt worden.

Es liegt zunächst nur die Angabe von Kolle und Turner⁶⁾ vor, nach der bei Rindern der durch große Dosen von Rinderpestserum verliehene passive Schutz bis zu 4 Monaten anhält.

Genauere Feststellungen über den Verbleib der dem tierischen Organismus injizierten bakteriolytischen Antikörper verdanken wir sodann den Untersuchungen von A. Schütze⁷⁾.

Nach subkutaner Injektion von je 1000 I.-E. von Ziegen-, Kaninchen- und Meerschweinchencholeraimmunserum beim Meerschweinchen fand er die so passiv immunisierten Meerschweinchen bei der Verwendung homologen Serums noch nach 24 Tagen gegen die intraperitoneale Infektion mit 1 Oese normalvirulenter Cholera geschützt; bei der Vorbehandlung mit heterologem (Ziegen- resp. Kaninchen-)Serum dauerte dagegen die passive Immunität nur 6—7 Tage.

A. Schütze hat jedoch den Verbleib der Antikörper im übrigen nicht ziffernmäßig genau verfolgt.

Im nachstehenden wollen wir diese Lücke durch Untersuchungen, die wir im Verlauf unserer Studien über die Antiimmunkörper vor längerer Zeit schon begonnen haben, ausfüllen.

Schon 1896 hatte der eine von uns (R. Pfeiffer) eine sehr auffällige hierher gehörige Beobachtung gemacht; er hatte einem sich frei-

1) Kraus und Joachim, Wien. klin. Wochenschr. 1903. No. 50.

2) Vagedes, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX. 1895.

3) Nocard, Journ. de Connaissances méd. 1896. No. 44/45.

4) Ransom, Journ. of Pathol. and Bact. 1899. p. 180.

5) Jörgensen und Madsen, zit. n. Kraus und Joachim (l. c.)

6) Kolle und Turner, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIX. 1898. p. 309.

7) Schütze, A., Festschr. z. 60. Geburtstag R. Kochs. 1903. p. 657.

willig dazu erbietenden Assistenten des Instituts für Infektionskrankheiten in Berlin 20 ccm Choleraziiegenimmunserum, enthaltend 300 000 I.-E., subkutan injiziert. Nach 24 Stunden wurde Blut mittels Schröpfkopf entnommen und im Serum die Menge der noch vorhandenen Immunkörper bestimmt.

Ganz gegen die Erwartung war das Serum der Versuchsperson so gut wie unwirksam; die injizierten 300 000 I.-E. waren also im Verlauf von 24 Stunden verloren gegangen.

Die Reihe unserer jetzigen Versuche eröffneten wir mit der Prüfung der Frage, wieviel I.-E. beim Meerschweinchen bei subkutaner Einverleibung von Immunserum notwendig sind, um nach Ablauf einer gewissen Zeit (die in den einzelnen Versuchen zwischen 3—14 Stunden schwankte) noch gegen die intraperitoneale Infektion mit $\frac{3}{4}$ Oese virulenter Cholera Schutz zu verleihen.

Zu den Versuchen wurde sowohl Ziegencholeraimmunserum (heterologes) wie Meerschweinchencholeraimmunserum (homologes) benutzt.

Die Versuche sind in den folgenden Tabellen (No. I und II) zusammengestellt.

Tabelle I.

Versuche mit subkutaner Injektion von Ziegencholeraimmunserum.

Gewicht des Meerschweinchens	Zahl der subkutan injizierten I.-E. von Choleraziiegen serum	Die Infektion mit $\frac{3}{4}$ Oese Cholera erfolgte später als die passive Immunisierung um	Verlauf der Infektion
260 g	200	14 St.	tot massenh. Vibrionen im Peritoneum
280 g	300	1 $\frac{1}{2}$ "	tot spärlich Vibrionen im Peritoneum
260 g	1000	4 "	lebt

Es geht aus der Tabelle I hervor, daß 300 I.-E. Choleraziiegen serum unter den oben erwähnten Versuchsbedingungen nicht im stande sind, Meerschweinchen vor einer relativ bald darauf folgenden Cholerainfektion zu schützen; hierzu bedarf es bedeutend höherer Serummengen bis zu 1000 I.-E.

Viel günstiger verliefen die Versuche mit (homologem) Meerschweinchencholeraimmunserum (Tabelle II).

Tabelle II.

Versuche mit subkutaner Injektion von Meerschweinchencholeraimmunserum.

Gewicht des Meerschweinchens	Zahl der subkutan injizierten I.-E. von Meerschweinchen immunserum	Die Infekt. mit $\frac{3}{4}$ Oese virulenter Cholera erfolgte später als die passive Immunisierung um	Verlauf der Infektion
260 g	2	4 St.	tot
260 g	5	do.	"
260 g	10	do.	"
250 g	30	do.	"
260 g	50	3 St.	lebt
250 g	60	4 St.	"

Aus dieser Tabelle II ergibt sich, daß die mit 60 und 50 I.-E. homologen Serums vorbehandelten Tiere am Leben blieben, während

die Tiere, welche geringere Dosen (30 I.-E. und weniger) erhalten hatten, der Cholerainfektion erlagen.

Aus Tabelle I und II ergibt sich zwingend der Schluß, daß das homologe Serum das heterologe für die Zwecke der passiven Immunisierung unter den gewählten Versuchsbedingungen fast um das 10fache in seiner Wirksamkeit übertrifft.

Wir gingen nun daran, das Verhalten der homologen und heterologen Choleraimmunkörper im passiv immunisierten Tier einer zahlenmäßig genauen Analyse zu unterwerfen. Als Versuchstiere wurden einerseits Kaninchen, andererseits Meerschweinchen benutzt.

Es wurde den Tieren in den einzelnen Versuchsreihen teils intravenös, teils subkutan eine bestimmte auf das Körpergewicht berechnete Immunkörpermenge injiziert und dann zu gewissen Zeitintervallen das Blutserum dieser Tiere auf die Menge der mittels der bekannten Titrierungsmethode im Meerschweinchenperitoneum noch nachweisbaren Immunkörper untersucht.

A. Kaninchenversuche.

Versuch I: 2 annähernd gleich schwere Kaninchen erhalten jedes pro Gramm Körpergewicht 10 I.-E. Choleraimmunserum intravenös und zwar Tier A, 2950 g schwer, 29500 I.-E. (heterologen) Cholera-zeiegenimmunserums, Tier B, 2750 g schwer, 27500 I.-E. (homologen) Cholera-kaninchenimmunserums.

Unter der Voraussetzung, daß das Blutserum $\frac{1}{25}$ des Körpergewichtes beträgt und daß die passiv einverleibten Schutzstoffe ausschließlich in das Serum übergehen, waren in jedem Kubikcentimeter der passiv immunisierten Tiere 250 I.-E. zu erwarten, was einem Titer von 4 mg entspricht.

Der faktisch zu bestimmten Zeiten nach der Injektion gefundene Titerwert ergibt sich aus der nachstehenden

Tabelle III.
Intravenöse Injektion.

Zeit der Blut- entnahme nach der passiven Immunisierung	Serumtiter des mit homologem Serum vorbehandelten Kaninchens B	Serumtiter des mit heterologem Serum vorbehandelten Kaninchens A	Es sind von den ein- gespritzten Immunkörpern noch nachweisbar	
			beim homolog. Tier	beim heterol. Tier
1 St.	0,0075 g	0,005 g (untere Grenze nicht genau bestimmt)	53 Proz.	?
6 "	0,0075 "	0,0075 g	53 "	53 Proz.
19 "	0,015 "	0,015 "	27 "	27 "
45 "	0,025 "	0,05 "	16 "	8 "
6×24 "	0,09 "	0,15 "	4,4 "	2,6 "

Aus der Tabelle ergibt sich, daß nach 1 Stunde das Heterotier dem Homotier überlegen ist. Im weiteren Verlauf gleicht sich der Verlust der beiden Sera an Immunkörpern zunächst aus, während später sogar das Homotier dem Heterotier gegenüber im Vorteil erscheint.

Versuch 2: Die beiden Kaninchen erhielten in diesem Versuch nur je 1 I.-E. der beiden Immunsera pro Gramm Tier intravenös. Nach 45 Stunden hatte das mit homologem Serum geimpfte Tier einen Titer von 0,085 g, das mit heterologem Serum geimpfte einen Titer von 0,4 g. Bei dem homologen Tier war demnach noch gegen 50 Proz.

der injizierten I.-E. nachweisbar, während bei dem heterologen Tier die Wirkung so gut wie verschwunden war.

Versuch 3: Es wurden wiederum 2 Kaninchen je 10 I.-E. der beiden Immunsera pro Gramm Tier gegeben, jedoch diesmal subkutan. Zu erwarten war daher ein Titer der passiven Immunität von 4 mg.

Die faktisch zu bestimmten Zeiten nach der Injektion gefundenen Titerwerte ergeben sich aus der nachstehenden

Tabelle IV.
Subkutane Injektion.

Zeit der Blutentnahme nach der passiven Immunisierung	Titer des mit homol. Serum vorbehandelten Kaninchens	Titer des mit heterologem Serum vorbehandelten Kaninchens	Es sind von den eingespritzten Immunkörpern nachweisbar	
			beim homolog. Titer	beim heterol. Titer
6 St.	0,075 g	0,035 g	5,3 Proz.	11,5 Proz.
3 Tage	0,02 "	0,02 "	20 "	20 "
8 "	0,065 "	0,2 "	6,2 "	2 "

Auch diese Tabelle zeigt eine bemerkenswerte Analogie mit den Versuchen der Tabelle III.

Auffallend ist, daß nach 6 Stunden bei beiden Versuchskaninchen die subkutan injizierten Serummengen noch nicht vollständig resorbiert sind, da die nach 3×24 Stunden gefundenen Titerwerte noch einen erheblichen Anstieg erkennen lassen. Auch ist die Tatsache merkwürdig, daß die Resorption des homologen Serums langsamer erfolgt als die des heterologen.

Während bis zum 3. Tage sich Homo- und Heterotier gleich verhalten, zeigt sich am 8. Tage doch deutlich eine größere Tenazität der homologen Ambozeptoren.

B. Meerschweinchenversuche.

1. Versuch: 1 Meerschweinchen von 250 g Gewicht erhält 12000 I.-E. Choleraziegenserum subkutan; es würde dies einem passiven Titer von 0,8 mg entsprechen.

Die tatsächlich gefundenen Titerwerte sind in Tabelle V zusammengestellt:

Tabelle V.

Zeit der Blutentnahme nach der passiven Immunisierung	Titer des Serums	Von der injizierten Immunkörpermenge sind noch nachweisbar
14 Stunden	0,0065 g	12,5 Proz.
38 "	0,02 "	4 "

2. Versuch: 3 Meerschweinchen erhalten je 20 I.-E. pro Gramm Tier, Tier a Ziegen-, Tier b Kaninchen-, Tier c Meerschweinchencholeraimmunserum subkutan.

Der injizierten Menge der Immunkörper entsprach theoretisch ein Titer von 2 mg. Die tatsächlich zu bestimmten Zeiten gefundene Menge der Immunkörper erhellt aus Tabelle VI.

Aus der Tabelle VI geht hervor, daß das Kaninchenserum beim Meerschweinchen am raschesten verschwindet, daß schon nach 12 Stunden nur noch 10 Proz. vorhanden sind, nach 4×24 Stunden nur noch ca. 1 Proz. nachweisbar blieb.

Tabelle VI.

Zeit der Blut- entnahme nach der passiven Immunisierung	Titerwerte mit			Es sind von den eingespritzten Immun- körpermengen noch nachweisbar beim		
	Meer- schwein- chen- serum (Homo- serum)	Ziegen- serum (Hetero- serum)	Kanin- chen- serum (Hetero- serum)	Meer- schweinchen- serumtier	Ziegenserum- tier	Kaninchen- serumtier
12 Stunden	4 mg	9 mg	20 mg	50 Proz.	22 Proz.	10 Proz.
42 "	wegen Mangel an Serum nicht genau be- stimmt	15 "	70 "	—	13,3 "	2,9 "
4 Tage	15 mg	40 "	200 "	13,3 Proz.	5 "	1 "
8 "	40 "	300 "	> 400 "	5 "	0,66 "	0,5 "

Günstiger verhält sich das Ziegenimmunserum, von dem nach 12 Stunden noch 22 Proz., nach 4 Tagen noch 5 Proz. aufgefunden wurden.

Am längsten haben sich auch hier wieder die Immunkörper des homologen Serums erhalten, von denen nach 12 Stunden noch ca. 50 Proz., nach 96 Stunden noch 13,3 Proz., nach 8×24 Stunden noch 5 Proz. nachweisbar waren.

3. Meerschweinchenversuch: Dieser Versuch stellt eine Wiederholung des Versuches 2 dar, nur mit 20mal geringerer Menge von Immunkörpern, also 1 I.-E. pro Gramm Tier.

Nach 24 Stunden bereits waren bei dem Ziegen- und bei dem Kaninchenserumtier von Antikörpern fast nichts mehr nachweisbar, bei dem mit homologem Serum vorbehandelten Tier waren noch deutlich Immunkörper vorhanden, jedoch immerhin nur 27 Proz. der in den Organismus eingebrachten Menge.

Ein zweiter Kontrollversuch, bei dem 1 Meerschweinchen, gleichfalls subkutan, 350 I.-E. homologen Serums pro Kilogramm Körpergewicht erhielt, verlief in genau dem gleichen Sinne, indem nach 24 Stunden nur ein Titer von 0,3 Proz. gefunden wurde, der schon an die Nähe des Normalwertes von Meerschweinchen serum für Cholera heranreicht.

Wenn wir nun das Fazit aus diesen Beobachtungen ziehen wollen, so ergibt sich, daß die passiv einverleibten bakteriolytischen Immunkörper sich ganz ähnlich verhalten wie die antitoxischen und daß auch die größten Mengen ganz überraschend schnell aus dem Tierkörper verschwinden, so daß in der Regel schon nach 4 bis höchstens 8 Tagen nichts mehr von ihnen nachweisbar ist.

Am raschesten entziehen sich die artfremden Immunkörper dem Nachweis; doch finden sich auch hier zwischen den einzelnen Tierspecies beträchtliche Unterschiede, wie sie sich z. B. in Tabelle VI in dem Verhältnis der Cholera- und Kaninchenimmunkörper zum Meerschweinchenorganismus deutlich manifestieren.

Aber auch die homologen Immunkörper verschwinden relativ früh, wenn auch nicht so schnell wie die heterologen aus dem Serum, und zwar verhalten sich Kaninchen und Meerschweinchen in dieser Beziehung völlig analog.

Nach diesen Tatsachen erscheint die Hypothese v. Behrings, der zufolge die passive Immunität sich von der aktiven nur durch die Art

der dabei eine Rolle spielenden Antikörper unterscheidet, so daß die längere Dauer der letzteren Art der Immunität ausschließlich auf die entsprechend längere Haltbarkeit der homologen Serumssubstanzen im Tierorganismus zu beziehen sei, als stark erschüttert.

Möglich wäre es ja allerdings, daß bei Verwendung von Autoimmun-
körpern sich noch andere Zahlen ergeben würden als in unseren mit Iso-
immunkörpern angestellten Versuchen. Mit Versuchen zur Klärung
dieser Frage sind wir zur Zeit beschäftigt.

Immerhin spricht die größere Wahrscheinlichkeit dafür, daß beim
aktiv immunisierten Tier die so lange Zeit im Blute nachweisbaren
Immunkörper nicht ausschließlich als die Residuen eines akuten, in
wenigen Tagen sich abspielenden Abstoßungsprozesses von Zellrezeptoren
aufzufassen sind, sondern daß es sich hier um einen dauernden Sekre-
tionsprozeß handelt, der, einmal durch den Immunisierungsreiz angeregt,
langsam abklingend längere Zeit fort dauert.

Königsberg i. Pr., 22. Juli 1904.

Nachdruck verboten.

Weitere Beiträge zur Frage der Antisera und deren Be- ziehungen zu den bakteriolytischen Ambozeptoren.

[Aus dem kgl. hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr.]

Von **R. Pfeiffer** und **E. Friedberger**.

Die Bildung von immunisatorisch erzeugten Substanzen, welche den
bakteriolytischen Effekt der Cholera- und auch der Typhusambozeptoren
aufheben, also Antiambozeptoren im Ehrlich'schen Sinne darstellen,
gibt, wie seinerzeit Ehrlich betonte, zu gewissen theoretischen Schwierig-
keiten Anlaß, die wir allerdings in unserer letzten Arbeit (dieses Central-
blatt. 1903. No. 1) wesentlich entkräftigt zu haben glauben.

Immerhin war noch folgender Einwurf gegen unsere Auffassung
möglich: Durch die Behandlung von Tieren mit Serum fremder Tier-
species werden ja bekanntlich auch Präzipitine erzeugt und es war
denkbar, daß der hemmende Einfluß unseres Antiserums mit derartigen
Präzipitationseffekten, durch welche die bakteriolytischen Antikörper
ausgefällt und so unwirksam gemacht würden, zusammenhänge.

Allerdings hatten wir schon in der vorerwähnten Arbeit Versuche
publiziert, welche dieser Erklärung nicht günstig waren.

Wir hatten Choleraambozeptoren an Cholera Bakterien verankert und
gesehen, daß auch auf diese gebundenen Ambozeptoren das Antiserum
einen die Bakteriolyse hemmenden Einfluß auszuüben vermochte, wofern
nur entsprechend größere Quantitäten des Antiserums gegeben wurden,
so daß, wie wir annahmen, eine Art Massenwirkung eintreten konnte.

Da nun nach der bisherigen Auffassung die Cholera Bakterien nicht
die Eiweißstoffe des Serums im allgemeinen, sondern nur die darin ent-
haltenen auf ihre Rezeptoren spezifisch eingestellten Immunkörper zu
binden vermögen, so war durch die eben angeführte Tatsache die Auf-
fassung der Antiserumwirkung als eines Serumpräzipitationseffektes höchst
unwahrscheinlich geworden; zum mindesten war durch unseren Versuch
bewiesen, daß die supponierten Präzipitine eine spezifische Beziehung

zu den aus dem Serum isolierten Choleraambozeptoren besitzen, was nur ein anderer Ausdruck für unsere eigene frühere Annahme sein würde.

Bei der theoretischen Wichtigkeit dieser Frage haben wir weitere Versuche in derselben Richtung angestellt, die wir hier mitteilen wollen.

Wir besaßen ein Antiserum, welches durch Behandlung von Kaninchen mit Cholerazienserum erhalten war, und dessen Titer fast genau den Werten, welche wir in unserer ersten Arbeit über diesen Gegenstand (Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 1) mitgeteilt haben, entsprach.

Das in unseren Versuchen verwendete Cholerazienserum hatte einen Titer von $\frac{1}{1,6}$ mg, die Cholerakultur die normale Virulenz von $\frac{1}{1,0}$ Oese.

20 mg dieses Cholerazienserums = 300 I.-E. wurden in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst und mit 5 Oesen frischer, lebender und vollvirulenter Cholera versetzt.

Die so erhaltene Vibrionenemulsion wurde 50 Minuten bei 0° gehalten, dann auszentrifugiert. Der Niederschlag wurde 4 mal in je 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschüttelt, dadurch gründlich ausgewaschen und dann wieder abzentrifugiert, um auch die letzten Spuren des Serums zu entfernen und dann in 6 ccm physiologischer Kochsalzlösung durch längeres Schütteln möglichst gleichmäßig verteilt. Unter der Annahme, daß sämtliche Choleraambozeptoren gebunden waren, was wohl nicht in vollem Umfange zutrifft, war die obere Grenze des Immunkörpergehaltes pro Kubikzentimeter der Emulsion 50 I.-E.

Abgemessene Mengen der so gewonnenen Emulsion wurden mit wechselnden Mengen des Antiserums gemischt; dann wurden in jedem Versuche $\frac{2}{3}$ Oesen¹⁾ lebender, hochvirulenter Choleraabakterien in der Mischung verrieben und Meerschweinchen von 200 g Körpergewicht intraperitoneal injiziert.

Das Resultat der Versuche ergibt die folgende Tabelle I.

Tabelle I.
Wirkung des Antiserums auf an Cholravibrionen verankerte Ziegencholeraambozeptoren.

Grenzzahl der I.-E. des Cholerazienserums an Cholravibrionen gebunden	Dosis des Antiserums	Infektionsdosis	Resultat	Bemerkungen
30 I.-E.	20 mg	$\frac{2}{3}$ Oese	†	massenhaft Vibrionen in Reinkultur
10 "	3 "	do.	lebt	nach 2 St. gleichviel Granula u. Vibrionen. Folgenden Tag Prozeß abgelaufen
10 "	5 "	do.	†	massenhaft Vibrionen in Reinkultur
10 "	10 "	do.	†	massenhaft Vibrionen in Reinkultur
Kontrollversuche				
10 I.-E.	—	$\frac{2}{3}$ Oese	lebt	1 St. nach der Infektion nur Granula
5 "	—	do.	"	2 St. nach der Infektion abgelaufen

1) $\frac{2}{3}$ Oesen wurden gewählt, weil frühere Versuche uns gezeigt hatten, daß die Infektionsdosis von 1 Oese Cholera bei dieser Versuchsanordnung, wo die Ambozeptoren erst nach Auflösung der Vibrionen, an welchen sie verankert sind, aktiv werden können, zu hoch bemessen ist.

Wir sehen also, daß das Antiserum tatsächlich im stande ist, in quantitativer Weise die bakteriolytische Wirkung durch Choleravibrionen ausgefällter und von den übrigen Serumbestandteilen befreiter Choleraimmunkörper aufzuheben, was unserer Voraussetzung von dem Wesen der Antiambozeptoren entspricht.

Auch die folgenden Versuche geben ein weiteres Argument für unsere Auffassung.

0,05 ccm Antiserum wurden mit 5 mg Ziegentyphusimmunserum gemischt, in der Absicht, zunächst die im Antiserum vorhandenen Präzipitine für die Eiweißkörper des Ziegenserums auszufällen; dann erst wurden in Versuch I 5 I.-E. Ziegencholeraserum an Cholerabakterien gebunden (cf. Tab. I) + $\frac{2}{3}$ Oese Cholera, in Versuch II 10 I.-E. an Vibrionen verankert mit derselben Infektionsdosis zuzesetzt. Die so erhaltenen Gemische wurden je einem Meerschweinchen von 230 g Gewicht intraperitoneal injiziert.

Beide Tiere starben mit massenhaften Vibrionen.

Die bisher mitgeteilten Versuche sind alle mit passiv übertragenem Antiserum angestellt worden. Es war wünschenswert zu untersuchen, ob unsere Annahme, wonach eine vorhergehende Injektion von Immunserum unter Umständen aktiv die Tiere so verändert, daß sie unfähig werden, späterhin dasselbe Immunserum im Infektionsfalle für sich nutzbar zu machen, tatsächlich zutrifft.

Zu diesem Behufe erhielten 2 Meerschweinchen von je 400 g Gewicht 5 ccm Choleraziegenserum = 75 000 I.-E. intraperitoneal. Nach 38 Tagen, als der passive Schutz erloschen und die Reizerscheinungen in der Bauchhöhle wohl zweifellos völlig abgeklungen waren, erhielt jedes Tier eine Dosis des Choleraziegenserums, welche 5 I.-E. entsprach, + 1 Oese virulenter Cholera.

Beide Tiere starben mit massenhaften Vibrionen, während ein 230 g schweres Kontrolltier mit 2,5 I.-E. + 1 Oese Cholera selbstverständlich glatt davankam.

Tabelle II.

Vorbehandlung des Tieres	Dosis des Cholera- ziegenserums	Infektions- dosis der Cholera	Resultat	Bemerkungen
vor 38 Tagen 75 000 I.-E. Cholera- ziegenserum intra- peritoneal	5 I.-E.	1 Oese	†	massenhaft Vibrionen in Reinkultur
do.	5 „	do.	†	do.
Kontrolle	2,5 I.-E.	1 Oese	lebt	nach 1 St. $\frac{1}{2}$ Vibrionen, $\frac{1}{2}$ Granula; folgenden Tag Prozeß abgelaufen

Den gleichen Versuch wiederholten wir mit an Choleravibrionen gebundenen Ambozeptoren, wobei die Versuchsanordnung der oben beschriebenen entsprach (cf. Tab. I).

2 Meerschweinchen von 380 resp. 360 g Gewicht wurden mit der intraperitonealen Injektion von je 5 ccm Choleraziegenserum = je 75 000 I.-E. vorbehandelt, nach 39 Tagen erhielt Tier I 12,5 I.-E. von Ziegencholeraambozeptoren an Choleravibrionen verankert + $\frac{3}{4}$ Oese Cholera; Tier II erhielt in sonst ganz analoger Weise 6 verankerte I.-E. + $\frac{3}{4}$ Oese Cholera; beide Tiere starben mit massenhaften Vibrionen, während bei

2 Kontrolltieren mit je 6 I.-E. an Vibrionen gebunden + $\frac{3}{4}$ Oese Cholera der Infektionsprozeß glatt ablief.

Tabelle III.

Vorbehandlung des Tieres	Dosis der an Cholera-vibrionen gebund. Cholera-ziegenambozeptoren	Infektionsdosis der Cholera	Resultat	Bemerkungen
vor 39 Tagen 75000 I.-E. Cholera-ziegen-serum intra-peritoneal	12,5 I.-E.	$\frac{3}{4}$ Oese	†	massenhaft Vibrionen in Reinkultur, † im Peritoneum
do.	6,0 „	do.	†	do.
Kontrolle	6,0 I.-E.	$\frac{3}{4}$ Oese	lebt	1 St. nach der Infektion viel Granula, spärlich Vibrionen; folgenden Tag Prozeß völlig abgelaufen
„	6,0 „	do.	lebt	1 St. nach der Infektion nur Granula; folgenden Tag Prozeß abgelaufen

Um auch die letzte Möglichkeit für die Präzipitationshypothese auszuschalten, wurden 2 mg Cholera-ziegen-serum, enthaltend 30 I.-E., mit 0,1 ccm Antiserum in 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst und 1 Stunde im Brutschrank bei 37° aufbewahrt, um die Bedingungen für die Präzipitation möglichst günstig zu gestalten, und dann weitere 15 Stunden bei Eisschranktemperatur gehalten.

Die nur ganz schwach opaleszierende Flüssigkeit wurde scharf zentrifugiert, wobei sich ein geringer aber deutlicher Niederschlag absetzte.

Von der völlig klaren überstehenden Flüssigkeit wurden 0,2 ccm entsprechend 3 I.-E. mit einer Oese Cholera gemischt und einem Meerschweinchen von 200 g Gewicht intraperitoneal injiziert. Das Resultat war, wie vorauszusehen, negativ, d. h. das Tier starb mit massenhaften Vibrionen im Peritoneum, ohne eine Spur bakteriolytischer Wirkung.

Das Zentrifugat wurde nun von den Resten der abgegossenen klaren Flüssigkeit durch vorsichtiges Absaugen mit Fließpapier möglichst befreit, dann in etwas physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen und zur Hälfte mit 1 Oese Cholera gemischt einem Meerschweinchen intraperitoneal injiziert. Auch dieses Tier starb mit massenhaften Vibrionen im Peritoneum.

Also weder in der klaren Flüssigkeit war etwas von den 30 I.-E. nachweisbar, noch auch in dem Präzipitat, so daß das Verschwinden der Choleraambozeptoren aus der Mischung unter dem Einfluß des Antiserums unter keinen Umständen auf eine einfache Ausfällung bezogen werden kann.

In einer weiteren Versuchsreihe versuchten wir die Minimalmenge des Antiserums zu bestimmen, welche noch im stande war, etwas mehr als die bakteriolytische Einheit (I.-E.) des Immunserums zu neutralisieren.

Aus der Tabelle IV geht hervor, daß noch $\frac{1}{2}$ mg des Antiserums die Prüfungsdosis von $1\frac{1}{2}$ I.-E. des Cholera-ziegen-serums unwirksam machen. $\frac{1}{4}$ mg hat diese Wirkung nicht mehr¹⁾. Höchst merkwürdig ist

1) Die Geringfügigkeit der Menge des Antiserums, welche die Bakteriolyse noch zu verhindern vermag, ist ein weiterer wichtiger Beweis dafür, daß, wie auch schon früher betont, dabei Antikomplementwirkung wohl kaum eine Rolle spielen kann.

Tabelle IV.

Dosis des Antiserums	Dosis der Ziegencholera- ambozeptoren	Infektions- dosis	Resultat	Bemerkungen
30 mg	7,5 I.-E.	1 Oese Cholera	†	2 St. nach der Infektion massenhaft Vibrionen, folgenden Tag †, Vibrionen massenhaft in Reinkultur
30 „	3,0 „	do.	†	1 St. nach der Infektion sehr viel Vibrionen, 4 St. nach der Infektion massenhaft Vibrionen, folgenden Tag †, Vibrionen massenhaft in Reinkultur
5 „	1,5 „	do.	†	nach 3 St. sehr spärlich Vibrionen; folgenden Tag †, spärliche Vibrionen in Reinkultur
5 „	1,5 „	do.	†	nach 4 St. sehr reichlich Vibrionen, folgenden Tag †, Vibrionen massenhaft in Reinkultur
2,5 „	1,5 „	do.	lebt	nach 2 St. spärlich Vibrionen, folgenden Tag Prozeß abgelaufen
2,5 „	1,5 „	do.	†	nach 4 St. massenhaft Vibrionen, folgenden Tag †, massenhaft Vibrionen in Reinkultur
2,5 „	1,5 „	do.	†	nach 1 St. ziemlich viel Granula u. Vibrionen, nach 4 St. viel Vibrionen, folgenden Tag †, spärlich Vibrionen
2,5 „	1,5 „	do.	lebt	nach 1 St. fast abgelaufen, nach 4 St. abgelaufen
2,5 „	3,0 „	do.	„	folgenden Tag abgelaufen
2,5 „	3,0 „	do.	„	do.
1 „	1,5 „	do.	†	nach 1 1/2 St. sehr viel Vibrionen, spärlich Granula, folgenden Tag †, massenhaft Vibrionen in Reinkultur
0,5 „	1,5 „	do.	†	nach 1 1/2 St. viel Granula, weniger Bakterien, folgenden Tag †, sehr viel Vibrionen in Reinkultur
0,25 „	1,5 „	do.	lebt	nach 3 St. viel Granula, spärliche Vibrionen, folgenden Tag abgelaufen

nun, daß mittlere Dosen des Antiserums von 2 1/2 mg ein ganz auffälliges Verhalten zeigten, indem gleich das erste mit dieser Dosis behandelte Tier mit dem Leben davorkam, während die Tiere mit größeren und kleineren Dosen prompt infolge der Antiserumwirkung an der Cholerainfektion zu Grunde gegangen waren. In der Annahme, daß ein Versuchsfehler vorliege, wurde derselbe Versuch 3mal wiederholt mit dem Resultat, daß 2 Tiere starben, eines aber wieder mit dem Leben davorkam.

Zwei weitere Meerschweinchen, welche dieselbe Dosis Antiserum, 2,5 mg, in Mischung mit 3 I.-E. Cholera-Ziegenserum + 1 Oese Cholera erhielten, blieben gleichfalls am Leben. Eine ähnliche Unregelmäßigkeit

der Versuchsreihen ist uns in unseren zahlreichen Experimenten mit Antiserum bisher nicht begegnet.

Es liegt nahe, in Ermangelung einer sonstigen Erklärung an eine Art von Hemmungszone des Antiserums zu denken, wie solche in analoger Weise bei den Immunagglutininen, aber auch bei der bakteriolytischen Wirkung der Antikörper im Reagenzglas (Neisser u. Wechsberg) beobachtet worden sind.

Von besonderer Bedeutung waren Versuche darüber, ob das mit Ziegencholeraserum erzeugte Antiserum auch auf die Typhusambozeptoren der Ziege einzuwirken vermag, was wir a priori für recht unwahrscheinlich zu halten geneigt waren.

Das Resultat entsprach unseren bestimmten Erwartungen aber nicht.

Wir benutzten zu diesen Versuchen ein Typhusziegenserum, dessen Titer mit einer hochvirulenten, frisch aus dem menschlichen Organismus gezüchteten Typhuskultur bestimmt genau 1 mg betrug.

Die Versuche wurden so angestellt, daß das Antiserum mit den betreffenden Dosen des Typhusziegenserums gemischt und dann mit Zusatz je einer Oese virulenter, 20-stündiger Typhuskultur Meerschweinchen von ca. 250 g Gewicht intraperitoneal injiziert wurde.

Das Resultat ergibt sich aus der folgenden Tabelle.

Tabelle V.

Dosis des Antiserums	Dosis des Immunserums der Typhusziege	Infektionsdosis	Resultat	Bemerkungen
0,1 ccm	10 mg	1 Oese Typhus	lebt	nach 1 St. abgelaufen
0,1 "	6 "	do.	"	nach 1 St. ziemlich viel Bakterien, nach 5 St. vereinzelte Bakterien, folgenden Tag abgelaufen
0,1 "	5 "	do.	+	nach 1 St. wenig Bakterien, nach 5 St. wenig Bakterien, folgenden Tag +, Typhusbakterien in Reinkultur
0,1 "	4 "	do.	+	folgenden Tag +, massenhaft Bakterien in Reinkultur
0,05 "	4 "	do.	+	nach 3 St. ziemlich viel Bakterien, folgenden Tag +, Typhusbacillen in Reinkultur
0,05 "	2 "	do.	+	nach 3 St. zahlreiche Bakterien, folgenden Tag +, Typhusbacillen in Reinkultur
0,15 "	Kontrolle	do.	+	folgenden Tag +, massenhaft Typhusbakterien in Reinkultur

Es ergibt sich aus dieser Tabelle, daß 0,1 ccm Antiserum den bakteriolytischen Effekt von in maximo 5 I.-E. des Typhusimmunserums zu hemmen vermag, größeren Dosen von 6 und 10 I.-E. gegenüber aber ohne Wirkung ist.

Die Hälfte der Antiserumdosis hemmt noch 4 I.-E.

Das Antiserum an sich ist, wie der Kontrollversuch zeigt, auf den Ablauf der Typhusinfektion ohne Wirkung.

Eine Erklärung für den Ausfall dieser Versuche zu geben dürfte recht schwierig sein.

Zunächst bietet sich wieder die Präzipitationshypothese, deren Unhaltbarkeit wir aber überzeugend bewiesen zu haben glauben; das gleiche gilt von der Hypothese der Antikomplemente, deren Kritik wir in früheren Arbeiten ausführlich behandelt haben und deren Unvereinbarkeit mit den Tatsachen dort erörtert ist.

Wir sind geneigt, anzunehmen, daß die verschiedenen Immunkörper ein und derselben Tierspecies, um in der Ehrlichschen Nomenklatur zu sprechen, eine Gruppe gemeinsam haben, welche sie eben als aus dem spezifischen Tierorganismus herstammend (in unseren Versuchen also als Ziegenambozeptoren) charakterisiert, und daß das Antiserum mit dieser Gruppe irgendwelche Beziehungen haben muß.

Weiteres läßt sich zur Zeit nicht aussagen und es wird noch vielfacher Forschung auf diesem schwierigen Gebiete bedürfen, um eine zureichende Erklärung für diese überaus komplexen Tatsachen zu finden.

Nachdruck verboten.

Ein neuer Beitrag zur Kenntnis der cytotoxischen Sera.

[Laboratorium für Parasitologie der kgl. Universität Turin (Prof. Perroncito). Von Herrn Prof. A. Bruschetti geleitete Abteilung.]

Von Dr. Silvio Sartirana.

(Schluß.)

Aus diesen Versuchen können wir den Schluß ziehen, daß während beim Kaninchen die gleichzeitige Injektion von defibriniertem Blute und Nebennieren von Meerschweinchen die Bildung eines cytolytischen und zugleich hämolytischen Serums hervorruft, beim Huhn hingegen, während sehr deutliche cytolytische Eigenschaften für die Nebennieren und das Nervensystem auftreten, sich keine Erscheinung von hämolytischem Vermögen zeigt.

Ich hatte schon in meiner ersten Mitteilung (loc. cit.) bemerkt, daß die abwechselnde Injektion von Nebennierenemulsion und defibriniertem Blute keine Bildung von hämolytischem Serum erzeugte. Diese Tatsache wird nun bestätigt, was die gleichzeitige Injektion von Nebennieren und Blut betrifft. Aber wo liegt der Grund für diese Erscheinung? Einige von mir ausgeführte Versuche können vielleicht den Weg zu ihrer Erklärung zeigen.

Zu den defibriniertes Meerschweinchenblut und wirksames Hühnerserum enthaltenden Röhren, wo keine Hämolyse beobachtet wurde, wurden verschiedene Mengen (1—0,25 ccm) Serum von normalem Hühnerblut hinzugesetzt. Nach wenigen Stunden (9—14) wurde vollkommene Auflösung der Meerschweinchenerythrocyten konstatiert. Dieselbe Erscheinung findet statt, allerdings in viel geringerem Umfange, wenn man normales Kaninchenserum an Stelle des Hühnerserums hinzufügt. Es scheint also, daß die gleichzeitigen Injektionen von Nebennierenemulsion und defibriniertem Blute beim Huhn die Bildung der hämolytischen Antikörper, des Zwischenkörpers von Ehrlich, hervorgerufen

haben, daß aber zu gleicher Zeit das im Blute normalerweise befindliche Alexin (Komplement) durch diese Injektionen verändert oder zerstört wird, ebenso wie wenn wir das Serum der Temperatur von 55° C aussetzen. Andererseits läßt ferner die Tatsache, daß es sehr deutliche cytolytische Eigenschaften gab, an eine Mehrheit der Alexine denken. In unserem Falle war das für die Entstehung der cytolytischen Erscheinung Notwendige unverändert geblieben, während jenes zerstört war, welches für das Zustandekommen der hämolytischen Erscheinungen nötig war.

Versuche in vivo:

Meerschweinchen A. Intraperitoneale Injektion von 1 ccm wirksamen Serums. Krämpfe, welche nach sehr kurzer Zeit von Mattigkeit und Lähmung gefolgt werden. Das Tier stirbt am 3. Tage. Blut normal. Nebennieren mit Blutungen, weich, die Marksubstanz ist sehr vermindert. Gehirn injiziert, Konsistenz vermindert. Bei der mikroskopischen Untersuchung Protoplasmavakuolisierung bei den Nebennieren. Karyolyse in den Ganglienzellen des Gehirns.

Meerschweinchen B. Subdurale Injektion von 1 ccm wirksamen Serums. Bald darauf Krämpfe, Zittern. Darauf folgt Lähmung, periphere Anämie, beschleunigte Atmung. Nach 24 Stunden stirbt das Tier. Bei der anatomischen Untersuchung nichts Bemerkenswerthes in den Nebennieren. Gehirn injiziert. Bei der mikroskopischen Untersuchung zeigen die Nebennieren keine nennenswerten Veränderungen, protoplasmatische Vakuolisierung und Blutungsherde im Zentralnervensystem.

Meerschweinchen C. Injektion in die Jugularis von 1 ccm wirksamen Serums. Paraplegie, merkliche Mattigkeit, Temperaturerniedrigung (36,5°) nach 4 Stunden. Tod am 3. Tage. Nebennieren und Lymphdrüsen stark injiziert. Gefäßinjektion im Gehirn. Die Seitenventrikel sind voll von blutiger seröser Flüssigkeit. Bei der mikroskopischen Untersuchung die gewöhnlichen Veränderungen. Blut normal, außer einem schwachen Grad von Leukocytose.

III. Gleichzeitige Injektion von Gehirn- und Nebennierenemulsion aus Meerschweinchen beim Huhn.

Zwei Nebennieren von durch Verblutung getöteten Meerschweinchen wurden mit physiologischer Lösung emulsioniert und zu dieser wurden gleiche Mengen von Gehirnemulsion ebenfalls aus Meerschweinchen hinzugesetzt und die Mischung durch ein dichtes Metallnetz filtriert. Die Injektionen wurden in die Muskeln und am Ende intraperitoneal ausgeführt, jeden zweiten Tag in der Menge von je 2 ccm.

Die Tiere wurden 3 Monate lang behandelt und 10 Tage nach der letzten Injektion verblutet. Die so behandelten Hühner befanden sich nicht in so blühendem Gesundheitszustande wie die Kontrolltiere und dementsprechend war ihre Entwicklung deutlich zurückgeblieben. Bei der anatomischen Untersuchung zeigten indessen die Nebennieren und das Gehirn keine wahrnehmbaren Veränderungen. Mit dem aus diesen Tieren gewonnenen Serum wurden wie gewöhnlich Versuche in vitro und in vivo angestellt.

Versuche in vitro (s. Tab. 6, 7 u. 8):

Wie aus der letzten Tabelle hervorgeht, tritt auch durch die gleichzeitige Injektion von Nebennieren- und Gehirnemulsion beim Huhn keine Bildung von hämolytischem Serum auf, ebenso wie es durch die gleichzeitige Injektion defibrinierten Blutes und Nebennieren beobachtet

Tabelle 6.
Wirksames Hühnerserum und Emulsion von Meer-
schweinchengehirn ausgewaschen und zentrifugiert.

Menge der Gehirnemulsion	Serummenge	Berührungs- dauer	Bemerkungen
2 ccm	0,50 ccm	11 Stunden	vollständige Cytolyse
2 "	0,50 "	7 "	" "
2 "	0,10 "	14 "	deutliche "
2 "	0,10 "	19 "	vollständige "
2 "	0,05 "	27 "	Agglutination "
2 "	0,05 "	33 "	Cytolyse

Tabelle 7.
Wirksames Hühnerserum und Emulsion von Meer-
schweinchennebenieren gewaschen und zentrifugiert.

Emulsionsmenge	Serummenge	Berührungs- dauer	Bemerkungen
2 ccm	0,50 ccm	10 Stunden	vollständige Cytolyse
2 "	0,50 "	6 "	" "
2 "	0,10 "	8 "	" "
2 "	0,05 "	16 "	" "
2 "	0,01 "	19 "	" "

Tabelle 8.
Wirksames Hühnerserum und defibriertes aus-
gewaschenes Meerschweinchenblut.

Menge des defibrierten Blutes	Serummenge	Berührungs- dauer	Bemerkungen
2 ccm	1 ccm	8 Stunden	nichts
2 "	1 "	22 "	"
2 "	1 "	36 "	Agglutination
2 "	2 "	20 "	nichts
2 "	2 "	31 "	Agglutination, aber keine Hämolyse

wurde. Es besteht indessen ein merkwürdiger Unterschied: Während nämlich der Zusatz von normalem Hühnerserum zum Serum von mit Nebennierenemulsion und Blut behandeltem Huhn diesem Serum hämolytisches Vermögen erteilte, erteilt derselbe Zusatz dem Serum von mit Nebennieren- und Gehirnemulsion behandeltem Huhn kein hämolytisches Vermögen. Es ist also nicht das Alexin, welches durch die gleichzeitigen Injektionen von Nebennieren und Gehirn verändert wird, sondern es ist wohl anzunehmen, daß durch diese Behandlung keine Bildung der spezifischen Antikörper, der Substance sensibilisatrice, erzeugt wird.

Versuche in vivo:

Meerschweinchen A. Subdurale Injektion von 0,5 ccm wirksamen Serums. Sehr schwere Erscheinungen, tonisch-klonische Krämpfe, Heulen, beschwerte Atmung. Tod nach 6 Stunden. Bei der anatomischen und mikroskopischen Untersuchung nichts oder fast nichts Bemerkenswertes.

Meerschweinchen B. Intraperitoneale Injektion von 1 ccm wirksamem Serum. Nicht so schwere Erscheinungen wie bei Meerschweinchen A. Tod am 3. Tage. Gehirn injiziert, Ventrikel erweitert

und voll von blutigem Serum. Nebennieren vergrößert, Marksubstanz kaum sichtbar. Bei der mikroskopischen Untersuchung protoplasmatische Vakuolisierung und Karyolyse der Gehirnganglienzellen, hämorrhagische Herde in den Nebennieren; die Marksubstanz ist fast vollkommen in eine Anhäufung größtenteils zerfallener roter Blutkörperchen umgewandelt. Vakuolisierung der Zellen der Rindensubstanz. Blut normal.

IV. Gleichzeitige Injektion von defibriertem Blut und Gehirn-emulsion von Meerschweinchen beim Hühne.

Die angewendete Versuchstechnik war die für die vorangehenden Versuche schon beschriebene. Die Hühner wurden 3 Monate lang behandelt und dann 10 Tage nach der letzten Injektion verblutet. Sie befanden sich unter sehr guten Gesundheitsbedingungen. Mit dem gewonnenen Serum wurden die gewöhnlichen Versuche in vitro und in vivo angestellt.

Versuche in vitro:

Tabelle 9.
Wirksames Hühnerserum und Emulsion von aus-
gewaschenem und zentrifugiertem Meer-
schweinchengehirn.

Emulsionsmenge	Serummenge	Berührungs- dauer	Bemerkungen
2 ccm	0,50 ccm	11 Stunden	deutliche Cytolyse
2 "	0,50 "	14 "	vollständige "
2 "	0,10 "	20 "	beginnende "
2 "	0,10 "	23 "	vollständige "
2 "	0,05 "	38 "	" "

Tabelle 10.
Wirksames Hühnerserum und Emulsion von aus-
gewaschenen und zentrifugierten Meer-
schweinchennebenieren.

Emulsionsmenge	Serummenge	Berührungs- dauer	Bemerkungen
2 ccm	0,50 ccm	10 Stunden	Agglutination
2 "	0,50 "	16 "	Cytolyse
2 "	0,10 "	21 "	"
2 "	0,05 "	26 "	Agglutination
2 "	0,05 "	34 "	auf sehr wenige Ele- mente beschränkte Cytolyse

Tabelle 11.
Wirksames Hühnerserum und defibriertes aus-
gewaschenes und zentrifugiertes Meerschweinchenblut.

Blutmenge	Serummenge	Berührungs- dauer	Bemerkungen
2 ccm	1 ccm	4 Stunden	Hämolysse
2 "	0,50 "	3,30 "	"
2 "	0,25 "	5 "	"
2 "	0,10 "	7 "	"
2 "	0,05 "	11 "	"
2 "	0,01 "	20 "	"

Im Gegensatz also zu dem, was bei den gleichzeitigen Injektionen von Nebennieren und Blut beobachtet wurde, rufen die gleichzeitigen Injektionen von Gehirn und Blut beim Huhn die Bildung eines cytolytischen und hämolytischen Serums hervor.

Versuche in vivo:

Meerschweinchen A. Subdurale Injektion von 0,5 ccm wirksamem Serum. Sofort darauf Lähmung, Stöhnen, Zittern. Nach ca. 36 Stunden tot. Keine wahrnehmbare Schädigung.

Meerschweinchen B. Intraperitoneale Injektion von 1 ccm wirksamem Serum. Die gewöhnlichen Erscheinungen. Tod am 4. Tage.

Meerschweinchen C. Injektion in die Jugularis von 0,5 ccm wirksamem Serum. Zuckungen, Stöhnen, Parese, namentlich der hinteren Extremitäten. Stirbt am 5. Tage. Nichts bei der anatomischen und histologischen Untersuchung außer einer merklichen Menge kernhaltiger roter Blutkörperchen.

Mit den verschiedenen, aus den behandelten Hühnern gewonnenen Sera habe ich andere Versuche angestellt zur Feststellung einiger noch dunkel gebliebener Punkte über die Zusammensetzung und die Eigenschaften der Hämolysine und der Cytotoxine.

A. Versuche mit dem toxischen Blut-Nebennieren-Serum von Kaninchen und Huhn.

In sterilisierte Glasröhren von kleinem Durchmesser setzt man gleiche Teile wirksames Hühnerserum und zentrifugierte Emulsion von Meerschweinchennebenieren und in andere die gleichen Teile wirksames Serum und defibriniertes gewaschenes Meerschweinchenblut. Nach Zustandekommen der Hämolysen und der Cytolyse werden die Mischungen zentrifugiert und die obestehende Flüssigkeit wird in andere Röhren in Berührung mit neuem defibrinierten Blute und neuer Nebennierenemulsion von Meerschweinchen gebracht. Diese Operation wiederholt man, bis die zentrifugierte und mit dem defibrinierten Blute und der Nebennierenemulsion in Berührung gebrachte Flüssigkeit keine Hämolysen und keine Cytolyse mehr erzeugt. Wenn man nun aus diesen Röhren, wo die Hämolysen und die Cytolyse nicht stattgefunden hat, das Serum aspiriert und den Versuch umgekehrt ausführt, indem man Blut zu dem Serum, welches in Berührung mit den Nebennieren war, und Nebennierenemulsion zu dem Serum, welches in Berührung mit dem Blute war, zusetzt, dann sieht man, daß die Hämolysen und die Cytolyse von neuem auftritt, was zum Schluß berechtigt, daß im Serum von gleichzeitig mit Blut- und Nebenniereninjektionen behandelten Kaninchen zwei spezifische Substanzen sensibilisatrices, die eine für das Blut, die andere für die Nebennieren, anwesend waren.

B. Versuche mit Nerven-Nebennieren-toxischem Hühnerserum.

4 Röhren werden mit wirksamem Hühnerserum angefertigt. Die erste dient als Kontrollversuch, die 2., 3. und 4. wird 2 Stunden lang auf 55° C gehalten. Dann wird der 3. Röhre normales Hühnerserum, der 4. normales Meerschweinchen Serum zugesetzt. Mit diesen 4 Röhren werden 4 Tiere (Meerschweinchen) subdural injiziert. Das erste mit dem Serum der Röhre 1 inokulierte Meerschweinchen stirbt unter den gewöhnlichen Erscheinungen binnen 17 Stunden. Das zweite mit Serum auf 55° C inokulierte Meerschweinchen zeigte sehr leichte Erscheinungen

und überlebt. Das dritte mit Serum auf 55° C plus normalem Hühnerserum inokulierte Meerschweinchen zeigte bald darauf sehr schwere Erscheinungen und stirbt am 2. Tage. Das vierte mit Serum auf 55° C plus normalem Meerschweinchenserum inokulierte Meerschweinchen zeigt bedeutend weniger schwere Erscheinungen, stirbt aber binnen 14 Stunden. Die Wiederholung dieser Versuche gab immer ähnliche Resultate. Es scheint also, daß während der Behandlung mit Nervensubstanz und Nebennieren nicht nur Bildung von Substantia sensibilitrice stattfindet, sondern daß auch das normale Alexin teilweise verändert wird. Denn das mit Serum auf 55° C plus normalem Hühnerserum inokulierte Meerschweinchen ist später gestorben als das mit wirksamem Hühnerserum inokulierte. Das Alexin des behandelten Huhnes war wirksamer (wenn ich mich so ausdrücken darf) als dasjenige, welches im Serum des normalen Huhnes enthalten ist. Und noch wirksamer war das normale Alexin des Meerschweinchens, denn die mit Serum auf 55° C plus Meerschweinchenserum behandelten Tiere starben alle vor denjenigen, die allein mit wirksamem Serum behandelt wurden, obwohl sie weniger schwere Erscheinungen zeigten.

Gleichfalls mit diesem Nerven-Nebennieren-toxischen Hühnerserum wurden die Versuche durch Zentrifugierung und Trennung wie beim Blut-Nebennieren-toxischen Serum angestellt, und auch in diesem Falle wies die Erfahrung die Gegenwart von zwei spezifischen Substantia sensibilitrices im Serum nach, die eine für das Nervensystem, die andere für die Nebennieren. Ich muß hier ferner erwähnen, daß der Zusatz von normalem Serum zu dem Serum, welches von der Nervensubstanz oder den Nebennieren sozusagen gesättigt worden war, das cytolytische Vermögen gar nicht von neuem hervorzurufen im stande ist. Es war also nicht der Mangel an Alexin, welcher das Zustandekommen von cytolytischen Erscheinungen behinderte.

C. Versuche mit dem Blut-Nerven-toxischen Hühnerserum.

Man bringt in 5 sterilisierte Röhren von kleinem Durchmesser gleiche Mengen wirksamen Serums. Die erste Röhre soll zur Kontrolle dienen. Die 2., 3., 4. und 5. Röhre werden der Temperatur von 55° C 1 Stunde lang ausgesetzt, und während die 2. Röhre unverändert bleibt, wird der 3. normales Meerschweinchenserum, der 4. normales Hühnerserum und der 5. normales Kaninchenserum zugesetzt. 5 Meerschweinchen wurden subdural injiziert. Das erste mit wirksamem Serum injizierte stirbt binnen 24 Stunden, das 2. mit Serum auf 55° C injizierte überlebt, das 3. mit Serum auf 55° C plus normalem Meerschweinchenserum injizierte stirbt am 3. Tage, das 4. mit Serum auf 55° C plus normalem Hühnerserum injizierte Meerschweinchen stirbt binnen 48 Stunden, das 5. mit Serum auf 55° C plus normalem Kaninchenserum injizierte Meerschweinchen überlebt, nachdem es leichte Erscheinungen gezeigt hat.

Auch durch diese Versuche wird also die Annahme berechtigt, daß im normalen Serum die Alexine nicht das gleiche Vermögen bei allen Tieren besitzen, denn während der Zusatz von Hühneralexin zu dem unwirksam gewordenen Serum den Tod binnen 48 Stunden hervorruft, verursacht derjenige von Meerschweinchenserum den Tod erst später und jener von Kaninchenserum reaktiviert das 1 Stunde lang 55° C ausgesetzte wirksame Hühnerserum gar nicht.

Da ich ferner bei zahlreichen Versuchen beobachtet hatte, daß das normale Meerschweinchenserum dem bei 55° C unwirksam gemachtem

Serum das toxische Vermögen wieder gab, versuchte ich, dieses so unwirksam gemachte Serum direkt in den Kreislauf eines Meerschweinchens zu injizieren, um zu sehen, ob die normalen zirkulierenden Alexine sich mit den injizierten Substances sensibilitrices verbinden und so den Tod des Tieres hervorrufen. Bei wiederholten Versuchen war das Ergebnis immer negativ, die Tiere überlebten. Es ist also die Wechselwirkung in vitro zwischen Alexin und Substance sensibilitrice notwendig, damit man toxische Erscheinungen beobachten kann. Ihre Berührung in vivo scheint zu keiner Bildung des toxischen Moleküls zu führen, welches dann seine spezifische Wirkung auf die verschiedenen Organe entfaltet.

Obwohl diese meine Untersuchungen noch viele Fragen offen lassen, habe ich es doch für zweckmäßig gehalten, die erhaltenen Ergebnisse mitzuteilen, in der Ueberzeugung, daß die multiplen Injektionen von Emulsionen verschiedener Organe einen neuen Erforschungsweg darstellen können zur Feststellung der Wirkungsweise wie der Zusammensetzung der verschiedenen Cytotoxine.

Turin, 1904.

Nachdruck verboten.

Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit mit Bezug auf bakteriologische Zwecke.

[Aus dem hygienischen Laboratorium zu Helsingfors.]

Von **Max Oker-Blom.**

Mit 1 Figur.

Als ich unlängst die elektrische Leitfähigkeit als Indikator der Eiweißspaltung bei Verdauungserscheinungen¹⁾, sowie zur Konstatierung von autolytischen Erscheinungen in Blutserum und Muskelsaft²⁾ zur Anwendung kommen ließ, fiel es mir ein, die genannte Methode auch mit Bezug auf bakteriologische Zwecke zu prüfen.

Einige präliminäre Versuche in dieser Richtung wurden auch damals schon angestellt³⁾.

Für eingehendere Versuche gilt es aber, die resp. Nährflüssigkeit, die der Einwirkung einer bestimmten Bakterie ausgesetzt wird, vor Verdunstung zu schützen. Hierbei ist noch dafür Sorge zu tragen, daß das Hantieren mit der infizierten Nährflüssigkeit für den Beobachter gefahrlos sei.

Diesen beiden Forderungen glaube ich durch das beigefügte Modell des Widerstandgefäßes Genüge geleistet zu haben.

Das mit einem gutgeschliffenen Glasstöpsel (*G*) versehene Widerstandsgefäß (*W*) nebst seinen resp. Platinelektroden (*E*₁ und *E*₂) wird mit zwei in den Stöpsel eingeschmolzenen Zuleitungsröhren (*Z*₁ und *Z*₂), welche mit Hg gefüllt, die Leitung zu diesen vermitteln, ausgestattet.

1) Die elektrische Leitfähigkeit und die Gefrierpunkterniedrigung als Indikatoren der Eiweißspaltung. (Skand. Arch. f. Physiologie. Bd. XIII. p. 359.)

2) Zur Frage von den autolytischen Erscheinungen in Blutserum und Muskelsaft. (Ibid. Bd. XIV. p. 48.)

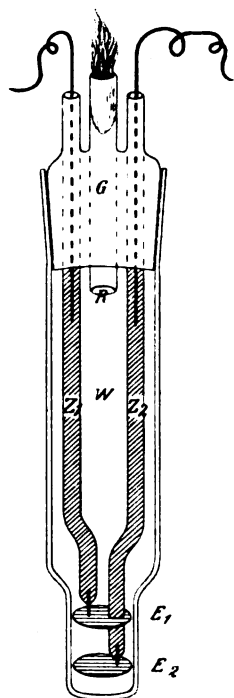
3) 1. c. Bd. XIV. p. 56 u. 57.

Ein drittes, ebenfalls durch den Stöpsel gehendes Glasrohr (*R*) dient zur bequemen Infizierung der resp. Nährflüssigkeit und kann mit Wolle oder Siegellack gut geschlossen werden.

Die Handhabung des kleinen Apparates gestaltet sich ganz einfach. Die Nährflüssigkeit wird in das Gefäß (*W*) gegeben, der Stöpsel mit anhaftenden Röhren und Elektroden eingesetzt, sowie das Rohr (*R*) mit Wolle geschlossen und das Ganze in dem Autoklaven sterilisiert. Sodann wird die Nährflüssigkeit mit der betreffenden Bakterie infiziert, welches durch das Rohr *R* mit dem Platindraht leicht geschieht, wonach das Rohr geschlossen wird.

Bei dieser Anordnung ist die Beobachtung der Leitfähigkeitsveränderungen der Nährflüssigkeit unter den Einfluß selbst pathogener Bakterien gefahrlos und nach den üblichen Methoden ausführbar.

Obgleich die elektrische Leitfähigkeit lediglich ein kollektiver Ausdruck verschiedener Vorkommnisse, resp. Zersetzungsprozesse der Nährflüssigkeit darstellt, so bürgt die besondere Empfindlichkeit der Leitfähigkeit einer Lösung dafür, daß selbst kleinere Aenderungen im Elektrolytengehalt der Flüssigkeit leicht einen Ausdruck finden und eventuell zu diagnostischen Zwecken dienen können.



$\frac{2}{3}$ natürl. Größe.

Nachdruck verboten.

Influence de l'agitation sur le développement des cultures.

[Institut d'hygiène expérimentale et de parasitologie de l'université de Lausanne.]

Par Bruno Galli-Valerio.

La question de l'influence de l'agitation sur le développement des cultures n'est pas encore tranchée. En effet, suivant Meltzer¹⁾, une agitation légère est favorable au développement des cultures, tandis qu'une agitation faible mais de longue durée ou une agitation forte, est très défavorable à leur développement. Suivant Otto Appell au contraire²⁾, l'agitation légère ou forte, n'a aucune influence sur le développement des cultures.

J'ai répété ces expériences en me servant de différentes bactéries et d'un saccharomycète.

La technique que j'ai employée a été la suivante. De chaque microorganisme employé, je faisais 4 cultures en bouillon peptonisé, dont deux étaient soumises à l'agitation et deux servaient comme témoins. Dans

1) Zeitschr. f. Biol. Bd. XXX. p. 454. Cité par Lehmann et Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie. 3. Aufl. 1904. p. 37.

2) Cité par Lehmann et Neumann, ibid.

chacun de ces 2 groupes, une des cultures était faite dans une éprouvette ordinaire, fermée avec un tampon de coton, tandis que l'autre était faite dans une éprouvette à étranglement, étranglement qui était soudé à la flamme après l'ensemencement. L'éprouvette ordinaire, qui devait être soumise à l'agitation, était renfermée dans un petit sac en toile suspendu à un piston vertical actionné par une turbine faisant environ 3000 tours à la minute. La culture ainsi suspendue, était vivement et énergiquement agitée, de la sorte qu'elle se couvrait d'écume. L'éprouvette scellée à la flamme était disposée horizontalement dans une gouttière circulaire actionnée par une turbine, qui lui imprimait des mouvements réguliers d'oscillation¹⁾, de la sorte que le bouillon contenu dans l'éprouvette, subissait de lents mouvements, de va et vient. J'ai réalisé de la sorte, deux types d'agitation. L'une rapide et violente, l'autre lente et faible. Soit les éprouvettes de contrôle, soit celles soumises à l'agitation, étaient placées dans une chambre à la température de 18—20°. L'agi-

— Le développement, 0 le fort développement, + le développement très abondant.

Espèces	Témoins	Agitation forte	Agitation faible	Observations
<i>B. anthracis</i>	—	0	+	Sporulation de toutes les cultures. Dans celles agitées, plusieurs formes courbées, en S
<i>B. megatherium</i>	—	0	+	Sporulation de toutes les cultures. Dans celles agitées, les bâtonnets sont un peu plus longs et moins épais que dans les témoins
<i>B. coli</i>	+	+	+	Dans les cultures agitées, beaucoup de formes 2—3 fois plus longues que dans les cultures témoins
<i>B. typhi</i>	—	0	+	Dans les cultures agitées, beaucoup de formes 2—3 fois plus longues que dans les cultures témoins
<i>B. pneumoniae</i>	—	0	0	Dans les cultures agitées, les bâtonnets sont un peu plus longs que dans les cultures témoins
<i>B. vulgare</i>	—	+	+	Retard de 12 h. dans le développement des témoins. Dans toutes les cultures il y a les mêmes formes
<i>B. pyocyaneus</i>	—	+	+	Formation du pigment dans toutes les cultures. Dans les cultures agitées les bâtonnets sont un peu plus longs, et plusieurs disposés en chaînettes
<i>M. pyogenes aureus</i>	—	0	0	Formation de pigment dans toutes les cultures. Les microscopiques sont en amas dans toutes les cultures
<i>S. lutea</i>	—	0	0	Formation de pigment dans toutes les cultures. Dans toutes, la sarcine est disposée en paquets
<i>Saccharomycète rose</i>	—	+	0	Formation de pigment dans toutes les cultures. Aspect identique des cellules dans toutes les cultures

1) Pour la description des appareils employés voir: Atti della società italiana per gli studi della malaria. Vol. IV. 1903 e V. 1904.

tation commençait immédiatement après l'ensemencement et continuait pendant 3 jours. Chaque jour je contrôlais l'état du développement.

Je résumerai dans un tableau, les résultats obtenus, en indiquant (v. Tabl. p. 152).

La lecture de ce tableau, nous démontre les faits suivants:

1. Que l'agitation, soit forte soit faible, n'empêche nullement le développement des bactéries et du saccharomycète avec lesquels j'ai expérimenté. Bien au contraire: Les cultures agitées se développent souvent plus vite et presque toujours plus abondamment que les cultures témoins.

2. Que l'agitation, soit forte soit faible, n'altère en rien la production des spores ni celle du pigment.

3. Que l'agitation, soit forte soit faible, ne modifie pas beaucoup l'aspect morphologique des bactéries. On observe seulement, parfois, des formes plus longues ou un peu courbées dans des cultures agitées.

4. Que microcoques, sarcines et saccharomycètes, ne sont modifiés ni dans leur forme ni dans leur groupement sous l'influence de l'agitation.

De mes recherches on devrait conclure, que l'agitation, même très forte, est plutôt favorable que défavorable au développement des cultures, au moins pour les espèces, qui ont servi pour mes expériences.

Lausanne, 20 juin 1904.

Nachdruck verboten.

Zur Färbung der Hyphomyceten im Horngewebe.

[Aus der k. k. deutschen dermatologischen Universitätsklinik in Prag.
Vorstand: Prof. F. J. Pick.]

Von Dr. Alfred Kraus, Assistenten der Klinik.

Wenngleich wir über eine entsprechend große Anzahl von Methoden verfügen, mit denen uns der Nachweis der Hyphomyceten auf färberischem Wege gelingt, so mag es mir dennoch erlaubt sein, in diesen Zeilen über die Ergebnisse einer auf das gleiche Resultat abzielenden Untersuchung zu berichten. Veranlassung zu derselben war mir das Bestreben, eine Methode der Pilzfärbung zu erreichen, die den besten bisher geübten an Brauchbarkeit nicht nachstehend, sie durch die anzuführenden Vorteile aber übertrifft.

Ein Nachteil, der den üblichen Methoden wohl insgesamt anhaftet, ist der, daß zu ihrer Ausführung eine mehr oder minder lange Zeit notwendig ist. So braucht es — um nur die beste und gebräuchlichste zu nennen — bei der von Waelsch (1) angegebenen zum Nachweis der Pilze in dünnen Schuppen 2–6, in dickeren und Haaren 8–12 Stunden. Dabei ist auch der ganze Vorgang ein immerhin ziemlich komplizierter, wenn man auch nur die an und für sich schwierige Herstellung der Farblösung und deren relativ kurze Gebrauchsfähigkeit in Betracht zieht.

Meine Versuche stellte ich nun mit zwei Farbstoffen an, die sich erst in letzterer Zeit einer ausgiebigeren Verwendung in der Färbetechnik erfreuen. Der erste derselben ist die von Pappenheim (2) für Blutfärbungen angegebene und auf seine Veranlassung von Grübler in den Handel gebrachte Methylgrün-Pyronin-Farbmischung, ein Triacid,

welches als Base das färbende Prinzip des polychromen Methylenblau Unnas enthält, die von L. Michaelis (3) als Methylenazur oder Azurblau angesprochen wird. Mit der von Grübler bezogenen Lösung versuchte ich nun die Darstellung von Hyphomyceten in Schuppen, wobei ich dieselben durch 5 Minuten in der Farblösung beließ, dann in Wasser und Alkohol brachte, bis keine Farbwolken mehr abgingen, und sie nach Xylol in Kanadabalsam einschloß. Das Resultat war ein — wenn auch nicht nach jeder Richtung — zufriedenstellendes; ich fand gegenüber dem mehr oder minder gut entfärbten Grundgewebe zumeist die Hauptmasse der Pilze gefärbt, doch ließ die Färbung insofern noch manches zu wünschen übrig, als die Intensität derselben an verschiedenen Stellen der untersuchten Objekte eine sehr verschiedene war: neben intensiv dunkelblau gefärbten Pilzelementen, Fäden wie Sporen, fanden sich ganz oder teilweise in tief-, rot- oder hellbraunen Tönen gefärbte Teile, endlich erschien ein verschieden großer Teil der Pilze ungefärbt.

War dadurch schon die relative Verwendbarkeit der erwähnten Methode, die an Kürze und Einfachheit nichts zu wünschen übrig läßt, gegeben, so war es doch sehr nahe gelegen, das Resultat nach verschiedenen Richtungen dadurch zu verbessern, daß ich das färbende Prinzip der vorerwähnten Farblösung, den Methylenazur selbst, in den Kreis meiner Untersuchungen einbezog.

Ich gelange damit zu dem eigentlichen Gegenstande meiner Mitteilung, wobei ich zunächst einiges Wesentliche über die Natur des Methylenazurs vorausschicken möchte.

Es gehört dieser Farbstoff zu den Umwandlungen, welche das Methylenblau durch Einwirkung von Alkalien erleidet, und die sich zum Teil als Reduktions-, zum Teil als Oxydationsprozesse darstellen. Das Methylenazur entsteht auf die letztere Weise und ist das Sulphon des Methylenblaus. Es ist ein in Wasser ungemein leicht mit blauer Farbe löslicher Farbstoff, der sich im Aussehen nicht von einer Methylenblaulösung unterscheidet. Wie Michaelis nachgewiesen hat, besteht auch der Farbstoff des polychromen Methylenblaus im wesentlichen aus Methylenazur, auf den auch die Rotstichigkeit desselben zurückzuführen ist; ebenso zeigt auch bei älterem Löfflerschen Methylenblau die größere Rotstichigkeit einen größeren Gehalt an Methylenazur an, wie auch alte Lösungen von gewöhnlichem reinen, in Glasgefäßen aufbewahrtem Methylenblau infolge des Ueberganges von Alkali aus dem Glase und Beschleunigung der Zersetzung des Methylenblaus, stets Azur enthalten. Dem Methylenazur ist nach Michaelis die hervorragende Färbekraft aller alten alkalischen Methylenblaulösungen zuzuschreiben.

Ich benutzte bei meinen Versuchen eine Methylenazurlösung, die nach Michaelis' Vorschrift angefertigt, von Grübler gebrauchsfertig bezogen werden kann, und deren Herstellungsweise folgende ist: 2 g Methylenblau medicinale werden in 100 ccm Wasser gelöst, dann zur Lösung genau 10 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-Natronlauge hinzugefügt, zum Sieden erhitzt und eine Viertelstunde lang im Sieden erhalten. Dann wird die Flüssigkeit bis zum Erkalten stehen gelassen und genau 10 ccm $\frac{1}{10}$ Normal-Schwefelsäure zugefügt (um eine vollständige Neutralisation zu erreichen), schließlich wird das Ganze filtriert.

Nach mehrfachen Versuchen mit dieser Farblösung, die sich namentlich aus Modifikationen der Dauer der Färbung und der Art der Differenzierung zusammensetzten, verwendete ich schließlich konstant das denkbar einfachste Verfahren, das ganz dem analog ist, welches ich bei der

Methylgrünpyroninmischung eingehalten habe. Auch hier wurde das zu färbende Material, zunächst pilzhaltige Schuppen, durch 5 Minuten in der Farblösung belassen, kam dann in Wasser so lange, bis keine Farbwolken mehr abgingen, dann in Alkohol, Xylol, Kanadabalsam. Das Resultat muß in jeder Hinsicht als vorzüglich bezeichnet werden, da in der Regel die intensiv hellblau gefärbten Pilze sich stark kontrastierend von dem mehr oder minder völlig entfärbten Grundgewebe abhoben, das zumeist nur noch einen ganz leichten diffusen grünlichen Schimmer beibehielt, der das Gesamtbild viel eher in günstigem als in ungünstigem Sinne beeinflusste. Dabei war die erreichte Färbung der Pilzelemente im ganzen Präparate eine gleichmäßig intensive. Färbte ich im allgemeinen 5 Minuten, so genügte für besonders dünne Schuppen gelegentlich auch ein kürzeres Verweilen in der Farblösung. Als ein Anhaltspunkt dafür, daß die Differenzierung im Alkohol entsprechend erfolgt sei, diente mir regelmäßig der auch makroskopisch dann leicht zu konstatierende fein grünliche Schimmer der gefärbten Schuppen. Durchschnittlich bedurfte es bis zu einer so weit gehenden Entfärbung des Horngewebes — die übrigens am allerbesten unter dem Mikroskope selbst kontrolliert werden kann — eines Aufenthaltes von ungefähr einer Minute in 96-proz. Alkohol. Eine viel weitergehende Differenzierung erfolgte dann wohl in allen Fällen gleichzeitig auf Kosten der Pilzfärbung, obzwar die gefärbten Pilzelemente offenbar eine große Affinität zu dem einmal aufgenommenen Farbstoff haben.

Das geschilderte Verfahren verwendete ich mit gleich gutem Resultate zur Pilzfärbung in Schuppen von Pityriasis versicolor, Herpes tonsurans, Favus, Eczema marginatum, Erythrasma, wobei es mich auch bei der Färbung dickerer Schuppen und Krusten keineswegs im Stiche ließ.

Von pilzhaltigen Haaren stand mir nur Favus-Haare zur Verfügung. Auch hier gab die Färbung prächtige Bilder. Dazu ist es hier aber notwendig, die — am besten vorher in Aether-Alkohol $\alpha\alpha$ entfetteten — Haare, länger, gewöhnlich 10 Minuten zu färben, damit auch ein entsprechend längerer Aufenthalt im Alkohol zum Zwecke hinreichender Differenzierung möglich ist.

Auch in Schnitten habe ich das Verfahren versucht und an 5 μ -Paraffinschnitten von Mäusefavus eine vorzügliche Färbung der Pilzelemente, schon nach einem Verbleiben von nur einer Minute in der Färbeflüssigkeit, erzielt.

Fasse ich nun das Gesagte zusammen, so scheint mir das Verfahren Vorzüge genug zu besitzen, um zum Nachweis der Hyphomyceten im Horngewebe einer allgemeineren Verwendung empfohlen zu werden. Zunächst ist der Farbstoff leicht zu beschaffen und die Lösung nach einer Mitteilung von Grubler unbegrenzt haltbar; allerdings muß sie gegen direktes Sonnenlicht, Alkali und Säure geschützt werden. Ferner ist die Prozedur äußerst einfach und wohl auch für den minder geübten leicht ausführbar. Die Hauptvorzüge aber sehe ich in der Kürze des Verfahrens, das es ermöglicht, eine distinkte Pilzfärbung in wenigen Minuten zu erzielen, was für die Diagnostik von unbedingtem Wert ist.

Literatur.

- 1) Waelsch, Zur Anatomie des Favus. (Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. XXXI. 1895. p. 49.)
- 2) Pappenheim, Eine panoptische Triacidfärbung. (Deutsche med. Wochenschr. 1901. No. 46.)
- 3) Michaelis, L., Das Methylenblau und seine Zersetzungsprodukte. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIX. p. 763.)

*Nachdruck verboten.***Impftisch für Rinder.**

[Aus dem schweiz. Serum- und Impfinstitute in Bern (Direktor: Prof. Tavel).]

Von Dr. A. Carini, Chef der Vaccineabteilung.

Mit 2 Figuren.

Zur Erzeugung von Pockenlymphe benützt man in einigen Instituten Milchkälber, in anderen ausgewachsene Rinder ohne Rücksicht auf Geschlecht oder Alter der Tiere.

Wenn es sich um kleine Kälber handelt, ist es ein Leichtes, einen passenden Impftisch herzustellen, und in der Tat haben wir mehrfach solche Apparate tadellos funktionieren sehen, in gleicher Weise, wie der von uns in unserem früheren Institute in Lancy zu denselben Zwecken benutzte Tisch nichts zu wünschen übrig ließ. Anders jedoch gestalten sich die Verhältnisse, wenn größere Tiere in Frage kommen, wie z. B. in unserem Institute, wo fast ausschließlich ausgewachsene Rinder zur Verwendung gelangen, d. h. Kühe verschiedenen Alters und Stiere zwischen 2 und 5 Jahren, also im allgemeinen Tiere von 500—800 kg Körpergewicht.

Von allen Tischen für Rinder, welche wir bis jetzt in anderen Instituten im Gebrauch sahen, ist uns derjenige der „Impfstoffgewinnungsanstalt zu Wien“ (hergestellt von Mechaniker A. Czokor, Wien) als der zweckmäßigste erschienen und wir haben denselben auch sofort adoptiert.

Da jedoch dieser Tisch für Kälber von 8—10 Monaten berechnet ist, eignet er sich nicht so gut für schwerere Rinder, und wir sahen uns daher genötigt, an demselben wesentliche Modifikationen vorzunehmen. Zu diesen Umgestaltungen sind wir erst nach einer Reihe mannigfacher und eingehender Versuche gelangt, und schließlich ist uns die Konstruktion eines Tisches gelungen, der alle Vorteile in sich vereinigt, deren Anbringung auf Grund einer längeren Erfahrung als zweckmäßig sich erwiesen hat und der in jeder Hinsicht den gestellten speziellen Anforderungen vollkommen entspricht.

Die Anforderungen, die an einen guten Impftisch gestellt werden müssen, sind folgende:

Das Tier muß auf dem Tische in kürzester Zeit von einer einzigen Person so fixiert werden können, daß es den Impfenden in keiner Weise stört und alle erforderlichen Eingriffe vollkommen gesichert vor den Bewegungen des Tieres vorgenommen werden können.

Der Tisch muß so beschaffen sein, daß sich der zu impfende Körperteil darauf gut präsentiert, und daß die Lage des gefesselten Tieres

dabei eine so bequeme ist, daß jede Schädigung desselben ausgeschlossen ist.

Bei der Impfung von ausgewachsenen Rindern auf dem Czokorschen Tische haben wir speziell einen großen Uebelstand wahrgenommen und zwar hauptsächlich bei älteren Tieren. Dieselben tragen nämlich oft starke Kontusionen an der linken Hüfte davon, auf welche das ganze Körpergewicht zu liegen kommt.

Wenn man in Betracht zieht, daß die Tiere 3mal auf den Tisch gelangen müssen, das erste Mal um rasiert zu werden, das zweite Mal zur Vaccination und das dritte Mal zur Abimpfung, wird es leicht ver-

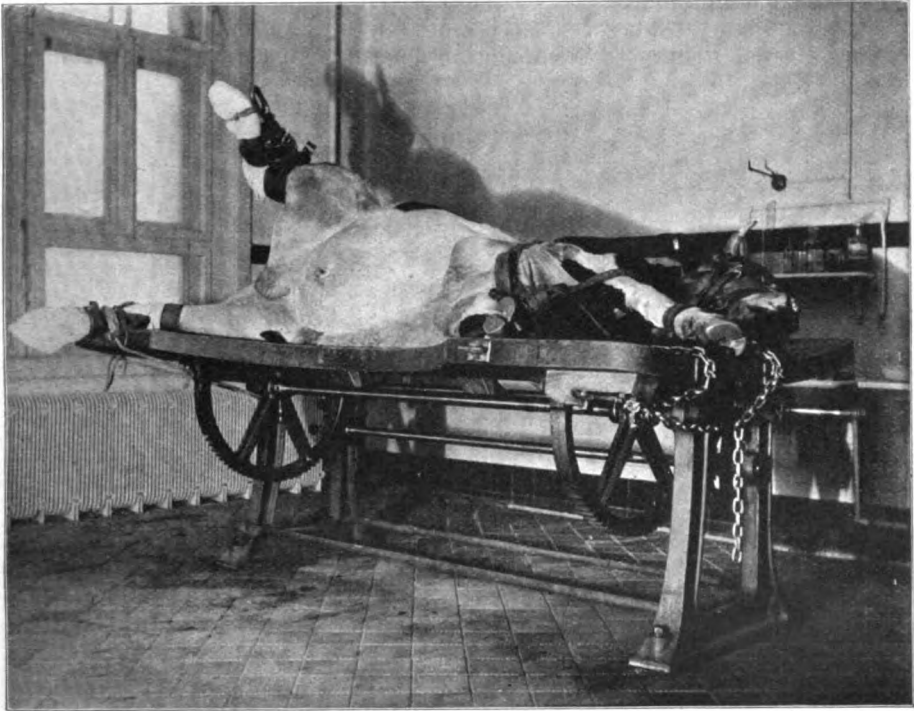


Fig. 1.

ständig, daß die Kontusion zuletzt erheblich und tief sein kann. Diesem Uebelstande haben wir dadurch abgeholfen, daß wir das Tier etwas mehr auf den Rücken und zwar auf besonders zu diesem Zwecke hergestellte Lederkissen liegen lassen.

Uebrigens erlaubt auf dem Czokorschen Tisch die Art der Befestigung des rechten Hinterbeines der Tiere an einer Eisenstange noch ziemlich starke ruckweise Bewegungen. Durch die Anstrengungen des Tieres sich frei zu machen, kommen zuweilen Verletzungen der Muskeln des Perinäums vor, die starke Blutungen im Gefolge haben.

Diesen zweiten Uebelstand haben wir dadurch beseitigt, daß wir der erwähnten Eisenstange eine besondere Stellung, nicht rechtwinklig zum Tisch, sondern in einem Winkel von ca 45° und außerdem genau ent-

sprechend der Kurve des Beines des Tieres, geben ließen, wie dies auf der Figur ersichtlich ist. Abgesehen davon, daß der Erfolg der Impfung bei einem nicht geschädigten Tier günstiger ist, hat für alle Impfinstitute die Tatsache eine wichtige Bedeutung, daß durch Blutungen und Quetschungen, welche den Wert des Tieres in Bezug auf Fleisch und Fell beeinträchtigen, dem Viehlieferanten eine erhöhte Entschädigung gewährt werden muß. Zudem hat ein zweckmäßig eingerichteter Tisch noch manche andere Vorteile, die in gewissem Sinne die Qualität der Lymphe indirekt zu beeinflussen im stande sind. Ein solcher Apparat erlaubt eine genaue Uebersicht und Prüfung des Impffeldes, macht die ganze Fläche der Reinigung zugänglich und erlaubt eine sorgfältige reinliche Abimpfung.

Wir glauben daher im Interesse anderer Impfinstitute zu handeln, wenn wir ihnen unseren modifizierten Operationstisch vor Augen führen,

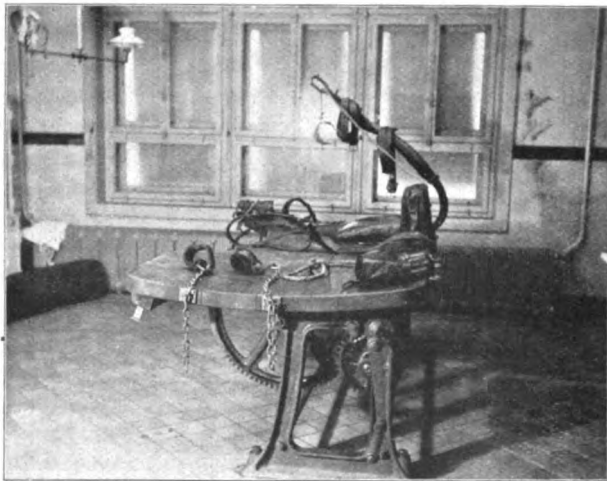


Fig. 2.

welcher nach den Erfahrungen, die wir bei der Impfung von Hunderten von Tieren gesammelt haben, angefertigt ist und allen Ansprüchen genügt. Unser Tisch erfordert nur eine einzige Person, um in kürzester Zeit ohne alle Gefahr selbst schwere und keineswegs gefügsige Stiere auf demselben zu fixieren. Die Tiere können stundenlang darauf liegen bleiben, ohne in irgend einer Weise eine Verletzung davonzutragen.

Die Bewegungen der Tiere sind auf ein Minimum beschränkt und können den Impfenden nicht im geringsten stören; auch steht ihm, trotz der umfangreichen Fesselung die ganze Impffläche zur Verfügung.

Da die Position des Tieres eine bequeme ist, so steht dasselbe, sobald es losgebunden und vom Tische herabgelassen wird, wieder auf seinen Beinen, wodurch die Möglichkeit einer Infektion der eben geimpften Fläche vermieden wird.

Der Tisch besteht aus einer breiten, dicken, eichenen Platte, die auf einer gußeisernen Unterlage ruht; diese Platte kann mittelst einer einfachen Vorrichtung nach Wunsch in eine wage- oder senkrechte Lage versetzt werden.

Der Mechanismus ist im Prinzip derselbe wie bei dem Czokorschen Tische und nur insoweit verschieden, als die Kraftübertragung eine andere ist, wodurch das Heben eines größeren Gewichtes mittelst geringeren Kraftaufwandes ermöglicht wird.

Die konkave Tischfläche ist gegen den Impfenden zu etwas erhöht. An den tieferen Stellen sind Löcher für den Abfluß des Wassers angebracht. Die Platte des Tisches bildet eine flache Rinne, welche durch Erhöhung der Längsseiten zu stande kommt.

Was die einzelnen Details anbetrifft, so verweisen wir auf die beigegebene Abbildung, da eine genaue eingehende Beschreibung an dieser Stelle zu weit führen würde und auch in genügender Weise nicht gegeben werden könnte.

Um ein Impftier auf den Tisch zu legen, führt man dasselbe neben die vertikal stehende Tischplatte, nähert das Tier möglichst dem Tische und bindet den Kopf fest, worauf zwei breite Gürtel, die durch einen Schlitz des Tisches gehen, fest um den Rumpf des Tieres gelegt werden. Dann wird der Tisch mit dem Tier mittelst Drehen der Kurbel in die horizontale Lage gebracht und das Festbinden vollendet.

Der komplette Tisch mit allen dazu nötigen Nebenutensilien kann vom Sanitätsgeschäft M. Schaerer A.-G. in Bern bezogen werden.

Nachdruck verboten.

Apparat zur sterilen Defibrinierung des Blutes.

[Aus der Anti-Rinderpeststation Surnabat.]

Von E. Dschunkowsky.

Mit 1 Tafel.

Zu unseren Untersuchungen der Piroplasmosen der Rinder bedürfen wir in letzter Zeit oft großer Mengen sterilen defibrinierten Blutes. Nach vielen Versuchen entschieden wir uns für einen besonderen Apparat, welcher die Sterilität der Arbeit bei der Operation garantiert.

Der Apparat besteht aus einem Glasgefäß (mehrere Liter fassend) mit 2 Oeffnungen, welche am oberen und unteren Rande gelegen sind. In diese Oeffnungen werden Gummipfropfen mit Glasröhren, auf welche Gummischläuche gezogen sind, eingestellt, wobei beide, der obere mit einer dicken Nadel, der untere mit einer Glasröhre endigend, in Probiergläser mit Wattepfropfen gesetzt werden. Auf dem unteren Schlauch wird ein Druckhahn angebracht. Die Oeffnung des Gefäßes deckt eine besondere Gummikappe mit ausgezogener Mitte in Gestalt einer geschlossenen Röhre. In diese Röhre ist ein Glasstab mit Gummi-Ende eingesetzt.

Die Gummikappe ist mit einer dünnen, festen Schnur an der Gefäßöffnung befestigt. Der ganze Apparat ist im Autoklaven sterilisiert. Man kann die obere Oeffnung, anstatt ins Glas, auch in Gestalt einer Gummiröhre in die Kappe machen, wie Fig. 1 zeigt.

Die Defibrinierung wird durch Schlagen des Blutes mit dem Glasstäbchen vollführt, wobei das Blut durch die obere Oeffnung in das Gefäß fließt und der Druckhahn geschlossen ist. Beim Umfüllen des defibri-

nierten Blutes in ein anderes steriles Gefäß wird der Druckhahn geöffnet und das Blut fließt ab, während die Fibringerinnsel auf der Oberfläche der Flüssigkeit schwimmen. Beim Defibrinieren kann man nur die Hälfte des Gefäßes füllen.

Zur ungehinderten Entfernung der Luft aus dem Gefäße ist es am zweckmäßigsten, in den oberen Gummipfropfen eine gebogene Glasröhre mit Wappfropfen einzustellen.

Tafelerklärung.

Fig. 1 zeigt den Apparat zur sterilen Defibrinierung des Blutes, in welchem statt der Oeffnung am oberen Rande des Glases eine Röhre in der Gummikappe ist.

Fig. 2 zeigt den Apparat mit entferntem Teile zur Klarlegung der Lage des Glasstäbchens in der Gummikappe, der Nadel und Glasröhre in den Wappfropfen.

Fig. 3. Die Abbildung des Apparates mit der oberen Oeffnung im Glasgefäß.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Ein-sendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabsätze direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Almquist, Ernst, Neue Entwicklungsformen des Choleraspirills und der Typhusbakterie, p. 18.

Arrhenius, Svante et Madsen, Thorvald, Toxines et antitoxines. Le poison diphtérique. (Schluß.), p. 1.

Bertarelli, E. u. Volpino, G., Experimentelle Untersuchungen über die Wut, p. 51.

Bosc, F. J., Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires). II. (Forts.), p. 39.

Calamida, Dante, Ueber die Wirkung des Sublimates bei den experimentellen Milzbrandinfektionen bei angeboren immunen Tieren, p. 11.

Carini, A., Kuhpockenlymphe und Tetanus, p. 48.

—, Impftisch für Rinder, p. 156.

Dachunkowsky, E., Apparat zur sterilen Defibrinierung des Blutes, p. 159.

Friedberger, E., Ein Beitrag zur Wirkungsweise lytischer Immunkörper (Ambozeptoren), p. 125.

Fuhrmann, O., Neue Trematoden, p. 58.

Galli-Valerio, Bruno, Influence de l'agitation sur le développement des cultures, p. 151.

Kraus, Alfred, Zur Färbung der Hyphomyceten im Horngewebe, p. 153.

Kraus, E. und Joachim, J., Ueber Beziehungen der präzipitinogenen Substanz zur agglutinogenen der Bakterien. (Schluß.), p. 73.

Lichtenheld, Georg, Ueber die Fertilität

und Sterilität der Echinokokken bei Rind, Schwein, Schaf und Pferd. (Schluß.), p. 64.

Loeb, Leo und Smith, A. J., Ueber eine die Blutgerinnung hemmende Substanz in *Anchylostoma caninum*, p. 93.

Oker-Blom, Max, Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit mit Bezug auf bakteriologische Zwecke, p. 150.

Pfeiffer, E. u. Friedberger, E., Ueber den Verbleib der bakteriolytischen Immunkörper im tierischen Organismus nach der passiven Immunisierung, p. 131.

—, Weitere Beiträge zur Frage der Antisera und deren Beziehungen zu den bakteriolytischen Ambozeptoren, p. 138.

de Rossi, Gino, Ueber die Agglutinationsfrage und insbesondere die Beteiligung der Geißeln der Bakterien. (Schluß.), p. 107.

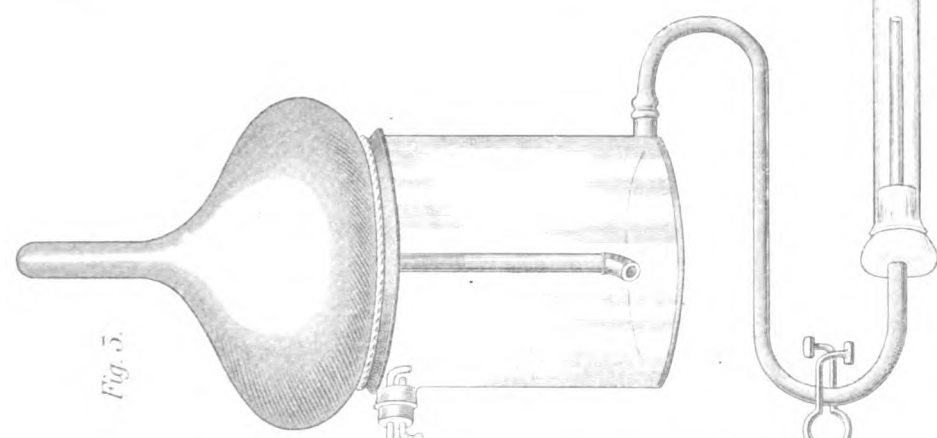
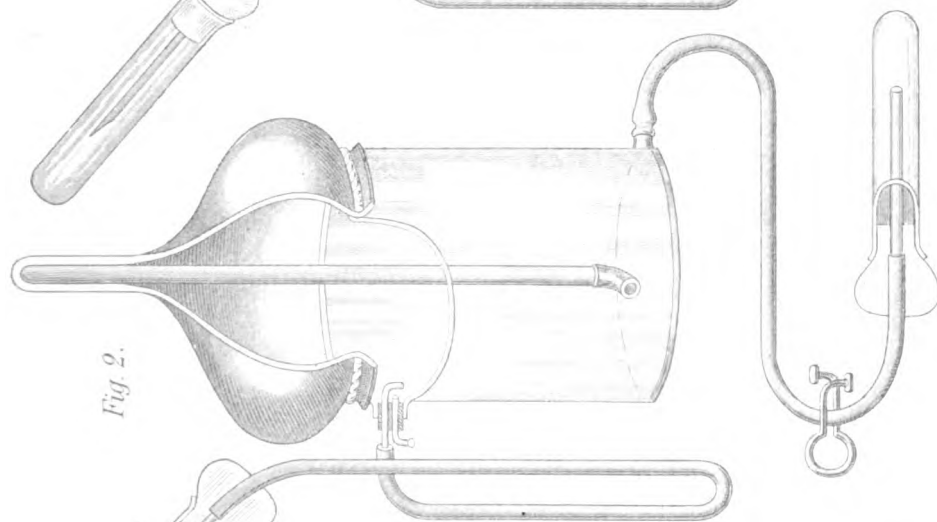
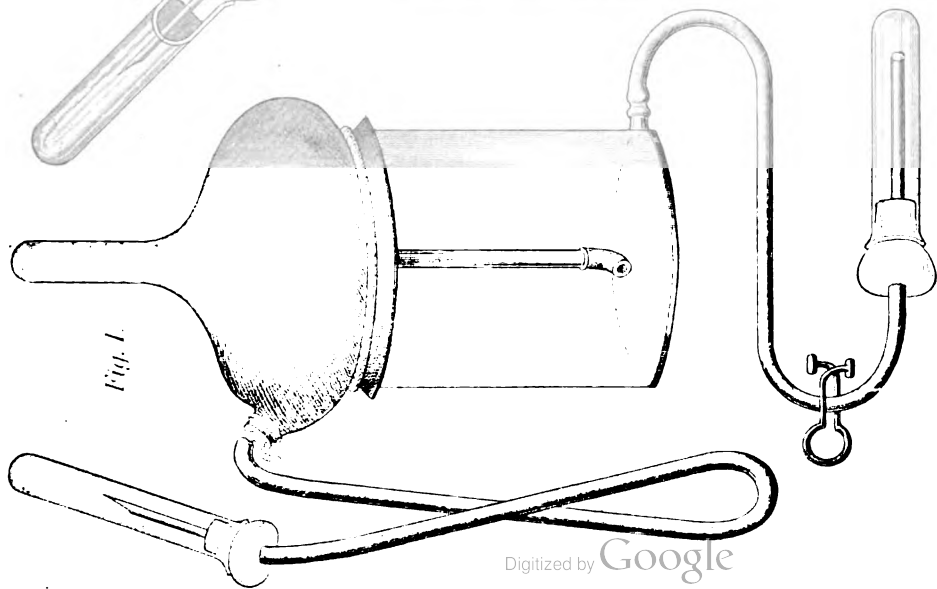
Russ, Victor, Zur Frage der Bakterizidie durch Alkohol, p. 115.

Sartirana, Silvio, Ein neuer Beitrag zur Kenntnis der cytotoxischen Sera. (Schluß.), p. 144.

Symmers, Wm. St. C., Note on a method of maintaining the virulence of a pathogenic micro-organism, p. 23.

Wagner, G. A., Puerperalerkrankung bei Meerschweinchen, p. 25.

Weil, Edmund, Ueber den Einfluß der Temperatur auf die spezifische und nicht spezifische Agglutination. (Schluß.), p. 98.



Nachdruck verboten.

Neue biologisch-chemische Untersuchungen über den *Bacillus typhi abdominalis* und *Bacterium coli commune*.

Von Prof. Dr. F. Ducháček in Proßnitz (Oesterreich).

Mit 1 Figur.

Beinahe 20 Jahre hindurch bemühte sich, nach der durch Escherich und Eberth gemachten Entdeckung der beiden genannten Mikroben, fieberhaft eine ganze Reihe von Forschern, wie es auch die einschlägige, umfangreiche Literatur beweist, um die Lösung der höchst wichtigen Frage des Erkennens des *Bacillus typhi* und des *Bacterium coli*. Die gesammelten Ergebnisse aber befriedigen nur in geringem Maße, indem die von verschiedenen Autoren aufgestellten diagnostischen Methoden in allen Fällen die Frage nicht ganz richtig zu lösen vermögen; dieselben versagen öfters und sogar in jenen Fällen, wo über die Gegenwart des einen oder des anderen Mikroben gar kein Zweifel herrschen kann. In der Regel genügt daher nicht allein die Anwendung einer einzigen diagnostischen Methode, sondern die Anwendung mehrerer diagnostischen Methoden belehrt uns erst mit Sicherheit über die Identität des Mikroben. Die Verwandtschaft unserer Mikroben ist so bedeutend und außergewöhnlich, daß einige Autoren die Behauptung wagten, *Bacillus typhi* sei eine Abart des *Bacterium coli*. Ja, aus einigen Erscheinungen könnte man darauf schließen, daß das *Bacterium coli* uns den *Bacillus typhi* liefern würde, wenn wir im stande wären, gewisse zymogene Eigenschaften durch pathogene zu ersetzen; diese Möglichkeit der Umwandlung konnte aber bis jetzt nicht bewiesen werden. Einige Forscher haben es zwar zuwege gebracht, dem *Colibacillus* die Möglichkeit der Indolbildung zu nehmen und ihn der Fähigkeit der Milchkoagulation zu berauben, auch ist es ihnen gelungen, den Typhusbacillus zur Indolbildung zu zwingen, ja, sie fanden sogar solche Typhusformen, welche nicht mit dem Typhusserum agglutiniert waren, aber alle diese Angaben können wir noch nicht als einen sicheren Beweis für den Uebergang eines Mikroben in den anderen auffassen. Am größten ist die Zahl derjenigen, welche zwar beide Mikroben als morphologisch sehr ähnlich und unverkennbar betrachten, aber dennoch im *Bacterium coli* und im *Bacillus typhi* mit Rücksicht auf ihre chemisch-biologischen Eigenschaften zwei vollständig verschiedene Abarten sehen. In der vollkommenen Kenntnis dieser chemisch-biologischen Eigenschaften müssen wir den Schlüssel zu ihrer Erkennung und Unterscheidung suchen.

Diese Ueberzeugung führte mich zur vorliegenden Arbeit; mein Studium bezweckte, die Einwirkung der beiden Mikroben auf Glukose, Weinsäure und Stickstoffsubstanzen zu verfolgen, und wich nur von der Arbeitsweise meiner Vorgänger ab, deren vollständig divergierende Angaben nicht befriedigen. Die Ungleichheit der gewonnenen Resultate beruht naturgemäß einerseits in den Mikroben selbst, die unter verschiedenen Verhältnissen isoliert wurden, andererseits aber in der Verschiedenheit der Nährsubstrate, deren Einwirkung notwendigerweise immer zu berücksichtigen ist, wie es Péré (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. VI. 1892. p. 512; T. VII. 1893. p. 637) für Milchsäure gelegentlich bewiesen hat.

Der Einwirkung von virulenten Reinkulturen der beiden Mikroben (2. Generation) wurden die Nährlösungen von nachstehender Zusammensetzung ausgesetzt. In 500 ccm der Lösung war enthalten:

Nährlösung A:	Nährlösung B:
5 g Glukose,	5 g Weinsäure,
2 „ Natriumnitrat,	2 „ Natriumnitrat,
0,5 g Pepton,	0,5 g Pepton,
0,125 g Natriumphosphat,	0,125 g Natriumphosphat,
0,100 „ Kaliumsulfat,	0,100 „ Kaliumsulfat,
0,025 „ Calciumchlorid,	0,025 „ Calciumchlorid,
0,025 „ Magnesiumchlorid,	0,025 „ Magnesiumchlorid,
0,025 „ Ferriphosphat.	0,025 „ Ferriphosphat.

Die Lösung B wurde unter Zugabe von Soda neutralisiert. Durch die vorgenommene Analyse wurde festgestellt, daß die verwendete Glukose 92,7-proz. (6,97 Proz. Wasser) und die Weinsäure 100-proz. war, weiter, daß das Natriumnitrat 16,5 Proz. und das Pepton 14,84 Proz. Stickstoff enthält.

Die befriedigende Uebereinstimmung dieser Zahlen mit jenen Daten, die aus den ungeimpften Versuchen sich ergeben, verbürgen uns, daß die angewandten analytischen Methoden ein klares Bild des Vorganges liefern, welcher durch die beiden Mikroben in den angegriffenen Nährböden hervorgerufen wird.

Die mir zur Verfügung gestellten Reinkulturen der beiden Mikroben verdanke ich dem Entgegenkommen des Herrn Dr. A. Velich, Professor an der Universität in Prag, welcher dieselben eigens zu diesem Zwecke aus den menschlichen Exkrementen isolierte. Ihm spreche ich für seine Bemühungen meinen verbindlichsten Dank aus.

Bei der Untersuchung der beiden Mikroben auf ihre diagnostischen Grundeigenschaften habe ich die Indolbildung beim Typhus- sowie auch beim Colibacillus nachgewiesen, hingegen fand ich ein üppigeres Wachstum auf den gebräuchlichen Nährböden und die Fähigkeit der Milchkoagulation nur beim Colibacillus.

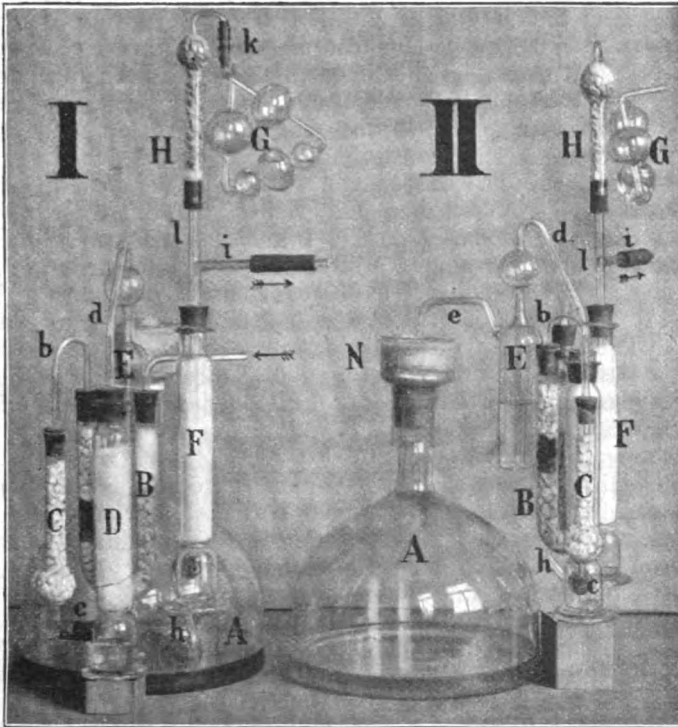
I. Versuche mit Glukoselösung.

Zur Kultivierung beider Mikroben in der Lösung A, die einerseits in reiner Wasserstoffatmosphäre, andererseits aber bei vollkommenem Zutritte von reiner Luft geschah, benutzte ich eigens zu diesem Zwecke von mir konstruierte Apparate, welche mir auch die Bestimmung der Menge des sich bildenden Kohlendioxyds und Schwefelwasserstoffs in den verschiedenen Stadien der Entwicklung ermöglichten.

Verfolgen wir nun die Einrichtung des Apparates auf dem beigefügten Bilde in der Vorderansicht (I) und Seitenansicht (II). Der Kolben A (Kubikinhalt 3,5 l; Durchmesser des Bodens 20 cm und der Flächeninhalt des Bodens 314 qcm) wurde mit 500 ccm der angeführten Lösung gefüllt, welche vermöge ihrer bedeutenden Oberfläche mit der oberhalb derselben lagernden Atmosphäre in Berührung stand. Der Hals des Kolbens war mit einem doppelt gebohrten Kautschukpfropfen versehen; in die eine Bohrung wurde ein kleiner breiter Trichter eingesetzt, mittels welchem nach dem Sterilisieren und der Inkubationszeit die Impfung durchgeführt wurde. Durch die andere Bohrung ging ein Röhrchen e, welches aus dem Waschkolben E das zum letzten Male mit

Wasser gereinigte Gas zuführte. Eine vollständige Abdichtung erzielte man dadurch, daß der breite Trichter *N* über den Hals des Kolbens *A* übergestülpt wurde, der entstandene Zwischenraum wurde mittels geschmolzener, beim Erstarren nicht zusammenschrumpfender Masse ausgefüllt, welche aus Talg, Oel und Wachs zubereitet war.

Reine, gründlich durchgewaschene Luft wurde aus dem Gasometer in die Röhre *a* gedrückt, in *B* durch eine Schicht Watte von den vegetativen Keimen und durch mit Kupfersulfat getränkten Bimsstein vom Schwefelwasserstoffe befreit, ging durch ein Röhrchen *b* in *C* über, wo die letzten Spuren des Kohlendioxyds mittels Natronkalkes aufgefangen



wurden, ging durch Röhrchen *c* in den Trockencylinder *D*, wo sie zum zweiten Male mittels Watte filtrierte wurde, hierauf drang sie durch Röhrchen *d* in den Waschkolben *E* und von hier aus durch Röhrchen *e* in den Kolben *A*. Die hier befindlichen Gase werden durch den Luftstrom mitgerissen und mittels Röhrchens *h* in den mit Watte gefüllten Cylinder *F* geleitet. Der Arm *i* des T-Rohres vermittelt die Ableitung der Gase zu den Apparaten, in welchen Kohlendioxyd und Schwefelwasserstoff getrennt aufgefangen und quantitativ bestimmt wurde, um endlich zum Aspirator zu gelangen; dagegen stand das Röhrchen *l* nebst dem Rohre *H*, welches den mit Kupfersulfat getränkten Bimsstein enthielt, noch mit dem Geisslerschen Kaliapparat, welcher mit Kalilauge gefüllt war, in Verbindung. Sämtliche Kautschukpfropfen wurden mit der schon erwähnten Masse abgedichtet. Der regelmäßige Gang der

Durchsaugung wurde an dem Waschkolben *E* beobachtet, wogegen die Bewegung der Flüssigkeit im Geisslerschen Kaliapparate immer den jeweilig geänderten Druck im Kolben *A* anzeigte. Nach beendeter Durchsaugung wurde die Oeffnung des Röhrchens *i* abgesperrt, wodurch *G* und *H* zur Sicherungsvorrichtung geworden ist, woselbst das Gas, welches zufällig bei eingetretener Druckdifferenz in den Kolben eingedrungen war, gereinigt wurde. Handelte es sich um die Kultur in der Wasserstoffatmosphäre, so wurde mittels des Röhrchens *a* aus dem Gasometer reiner Wasserstoff zugeführt und auch der Geisslersche Apparat *G* stand stets in Verbindung mit dem den Wasserstoff enthaltenden Gasometer. Die Durchtreibung der Gase erfolgte stets gleichzeitig durch 2 Apparate mit gleicher Geschwindigkeit und durch alle Apparate gingen immer gleiche Mengen der Gase durch.

Jeder vollständig zusammengestellte und mit 500 ccm der Nährlösung gefüllte Apparat wurde in je 3 nacheinander folgenden Tagen immer durch 2 Stunden sterilisiert und nachher so lange reine Luft oder Wasserstoff durchgetrieben, bis konstatiert wurde, daß der ganze Apparat von jenen Gasen frei ist, die im Verlaufe der Versuchsdauer bestimmt werden sollten. Im ganzen wurden 10 Versuche durchgeführt; die Apparate No. 1—5 wurden mit reiner Luft und No. 6—10 mit Wasserstoff durchgetrieben. Nach der Inkubationszeit wurde die Impfung mit den Reinkulturen der beiden Mikroben vorgenommen; in die Apparate No. 2, 4, 7 und 9 wurde der *Colibacillus* eingesät und in No. 3, 5, 8 und 10 der *Typhusbacillus*, hingegen blieben die Apparate No. 1 und 6 ungeimpft. Die Apparate wurden sodann in einem dunklen Raume beim Temperaturoptimum untergebracht und die Durchsaugung erfolgte jeden zweiten Tag mit gleicher Menge der Luft oder des Wasserstoffes.

A. Gasanalyse.

Die im Nährsubstrate durch die beiden Mikroben entwickelten gasigen Produkte wurden durch den Luft- oder Wasserstoffstrom in die Apparate mitgerissen, woselbst Schwefelwasserstoff und Kohlendioxyd getrennt aufgefangen und somit auch eine Einflußnahme dieser gasigen Produkte auf den Verlauf der Gärung aufgehoben wurde, auf welchen Umstand bereits Pennington und Küsel (Journ. Amer. chem. Soc. Vol. XXII. 1900. p. 556) und auch Ortloff (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VI. 1900. p. 676) hinwiesen. Die Austrocknung der Gase geschah mittels Calciumchlorid, welches durch 2-stündiges Durchtreiben des Kohlendioxyds die Fähigkeit, diese Verbindung zu binden, verlor. Das Aufnehmen des Schwefelwasserstoffes geschah in dem abgewogenen U-Rohre, welches mit Calciumchlorid und mit durch Kupfersulfat getränktem Bimsstein gefüllt war (Killiani, Analytische Chemie. p. 369. München 1900); die Gewichtszunahme entsprach dem Schwefelwasserstoffe. **Die Schwefelwasserstoffbildung, die von einigen Autoren angegeben wird, wurde durch diese Versuche nicht bestätigt gefunden**, denn die angestellten Nachweise desselben hatten in allen Fällen nur ein negatives Resultat, weswegen auch im Verlaufe der Arbeit dasselbe nicht in Betracht gezogen wurde. Die qualitative Bestimmung durch die Einlegung des mit Bleiacetat getränkten Papiers in den Gasstrom konnte ebenfalls die Gegenwart von Schwefelwasserstoff nicht bestätigen. Das Kohlendioxyd wurde entweder durch die Gewichtszunahme des gewogenen Kaliapparates oder aber durch Barytwasser gebunden und in diesem durch Titration mit Oxalsäure bei Zugabe von Phenolphthalein

als Indikator bestimmt (Killiani, Analytische Chemie. p. 496. München 1900). Die für Kohlendioxyd gewonnenen Daten wurden durch Multiplikation mit dem Faktor 0,727 auf Sauerstoff umgerechnet.

Ich erhielt nachstehende Resultate (s. p. 166).

Aus den angeführten Analysen ersieht man, daß das **Bacterium coli** aus Glukose eine bedeutende Menge des Kohlendioxyds entwickelt, wogegen *Bacillus typhi* dieses Gas gar nicht bildet, weil er nur den ungeimpften Versuchen ähnliche Ergebnisse liefert. Obzwar Radziewski (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVI. 1899. p. 764) durch seine Arbeiten das Vertrauen auf den diagnostischen Wert des Gasbildungsvermögens zu untergraben versucht, beweisen trotzdem die durch mich angestellten Versuche, welche auch die Forschungen Oppenheimers, Buchners (Arch. f. Hyg. Bd. III. 1885. p. 425), Rambouseks (Arch. f. Hyg. Bd. XXXVIII. 1900. p. 382), Saveljeffs (Protokolle d. Sitzung d. kais. kaukasisch. med. Gesellsch. Bd. LXXVI. 1900. p. 454), Penningtons und Küsels (Journ. Amer. chem. Soc. Vol. XXII. 1900. p. 556), Hardens (Chemiker-Zeitung. Bd. XXV. 1901. p. 353) sowie noch anderer bestätigen, daß dieser Unterschied zu den allerwichtigsten gehört, dem Wesen nach von qualitativer Beschaffenheit ist, wohingegen alle anderen bekannten Unterschiede der Mehrzahl nach quantitativer Natur sind. Wir ersehen weiter, daß der *Colibacillus* bei genügendem Luftzutritte mehr Kohlendioxyd ausscheidet als in der Wasserstoffatmosphäre; mit der Bildung dieses Gases befaßt sich der *Colibacillus* namentlich in den ersten 10 Tagen, späterhin aber wird die Erzeugung des Kohlendioxyds abgeschwächt. Eine Regel aber, nach welcher die Produktion des Kohlendioxyds vor sich geht, ist unmöglich aufzustellen.

B. Analyse der Nährlösung.

α) Nach Beendigung des Versuches wurde der Inhalt jedes Kolbens auf die Einheitlichkeit der Kultur geprüft. Das Resultat dieser Untersuchung war in allen Fällen ein zufriedenstellendes.

β) Bestimmung der Glukose und der organischen Säuren.

Zur Bestimmung der Glukose habe ich die von mir modifizierte Zentrifugalmethode Chapelle-Pellet (Bull. soc. chim. T. XXI. 1899. p. 515. T. XVIII. 1900. p. 776) angewendet. Es ist mir mit meiner Arbeit: „Kritische Studien über einige Wagemethoden zur Bestimmung von reduzierenden Zuckern und Vergleichung derselben mit der Zentrifugalmethode“ (Listy cukrovarnické. Bd. XXI. 1902/3. No. 6 u. 7. — Böhm. Ztschr. f. Zuckerind. Bd. XXVII. 1903. p. 678) gelungen, zu beweisen, daß diese Methode die einfachste und am raschesten zum Ziele führende ist, welche in keiner Richtung hin jenen Methoden, nach welchen das Kupferoxydul mittels Asbest im Soxhletschen Glasrohre oder im Goochschen Tiegel aufgefangen wird, nachsteht. Nach dieser Methode bereitet man die Fehlingsche Lösung für eine größere Anzahl von Analysen auf einmal durch Vermischen der abgemessenen Kupferlösung mit gleicher Menge der Seignettesalzlösung, die nach Meissl und Allihn hergestellt sind. Es werden nun 15 ccm der Fehlingschen Lösung und höchstens 0,0625 g Dextrose in Lösung in die Röhre gebracht und mit Wasser bis auf 40 ccm aufgefüllt. Dann werden die Röhren in das zuvor auf 140—150° C angewärmte Oelbad zu je zweien eingesteckt. Die Temperatur sinkt auf

1. Ungeimpfte Versuche.

Versuchsdauer: 11 Tage.

	Versuch No. 1	Versuch No. 6
Kohlendioxyd gefunden in mg: 3. Tag	2,0	0,4
5. "	8,2	3,7
7. "	3,5	0,5
9. "	0,7	2,4
11. "	7,2	6,0
Zusammen in 11 Tagen	21,6	13,0
Darin enthaltene Sauerstoffmenge	15,7	9,5

2. Geimpfte Versuche in Luftatmosphäre.

a) Versuchsdauer: 11 Tage.

	Versuch No. 2 Bacterium coli	Versuch No. 3 Bacillus typhi
Geimpft mit Kohlendioxyd gefunden in mg: 3. Tag	150,3	9,0
5. "	543,7	12,3
7. "	433,4	7,5
9. "	102,6	2,6
11. "	99,6	9,2
Zusammen in 11 Tagen	1329,6	40,6
Darin enthaltene Sauerstoffmenge	967,0	29,5

b) Versuchsdauer: 30 Tage.

	Versuch No. 4 Bacterium coli	Versuch No. 5 Bacillus typhi
Geimpft mit Kohlendioxyd gefunden in mg: 2. Tag	92,3	3,2
4. "	291,4	11,7
6. "	443,0	0,0
8. "	152,5	4,2
10. "	210,1	0,3
14. "	103,4	0,0
18. "	122,0	8,6
22. "	172,2	13,2
26. "	—	—
30. "	159,9	4,0
Zusammen in 10 Tagen	1189,3	19,4
Darin enthaltene Sauerstoffmenge	865,0	14,1
Zusammen in 30 Tagen	1746,8	45,2
Darin enthaltene Sauerstoffmenge	1270,4	32,9

3. Geimpfte Versuche in Wasserstoffatmosphäre.

a) Versuchsdauer: 11 Tage.

	Versuch No. 7 Bacterium coli	Versuch No. 8 Bacillus typhi
Geimpft mit Kohlendioxyd gefunden in mg: 3. Tag	64,2	2,0
5. "	225,9	3,6
7. "	121,3	3,1
9. "	293,0	5,8
11. "	119,4	0,5
Zusammen in 11 Tagen	823,8	15,0
Darin enthaltene Sauerstoffmenge	599,1	11,0

b) Versuchsdauer: 30 Tage.

	Versuch No. 9 Bacterium coli	Versuch No. 10 Bacillus typhi
Geimpft mit Kohlendioxyd gefunden in mg: 2. Tag	52,2	1,9
4. "	168,4	0,7
6. "	277,5	8,4
8. "	474,9	0,0
10. "	98,0	5,2
14. "	200,2	12,8
18. "	65,6	2,6
22. "	28,1	3,0
26. "	—	—
30. "	36,4	5,4
Zusammen in 10 Tagen	1071,0	16,2
Darin enthaltene Sauerstoffmenge	779,0	11,8
Zusammen in 30 Tagen	1401,3	40,0
Darin enthaltene Sauerstoffmenge	1019,1	29,0

115—120° C und muß so erhalten werden. In wenigen Augenblicken beginnt die Flüssigkeit zu sieden und wird 2 Minuten im Sieden erhalten. Es empfiehlt sich nicht, früher weitere Röhren in das Oelbad einzulegen, bevor in den ersten zweien das Sieden begonnen hat, um den Beginn des Siedens, der bei engeren Röhren und höherer Temperatur des Bades leicht stoßweise erfolgt, wobei ein Ueberschäumen eintreten kann, besser überwachen zu können. Wenn die Zuckerlösung gut geklärt war, scheidet sich das Kupferoxydul mit schön roter Farbe ab. Nach Herausnahme der Röhre läßt man das Oel abtropfen; wenn man sich der gewöhnlichen Gerberschen Zentrifuge bedient, verschließt man die Röhren mit Kork- (nicht Kautschuk-) Pfropfen und zentrifugiert alle auf einmal. Um das Gleichgewicht in der Zentrifuge zu erhalten, muß immer eine gerade Anzahl Röhren eingelegt werden. Das Einstellen der Zentrifuge muß langsam geschehen, da sonst leicht das Kupferoxydul sich loslöst und man von neuem zentrifugieren muß.

Die herausgenommenen Röhren werden entkorkt, die Lösung abgegossen, die Röhren auf ein Stück Filterpapier gestürzt und abtropfen gelassen. Dann werden sie mit heißem Wasser wieder bis zur Marke gefüllt, verstopft, neuerdings zentrifugiert, das Wasser in dasselbe Becherglas abgegossen und die Röhren auf demselben Papier abtropfen gelassen. Wenn richtig gearbeitet wurde, darf weder auf dem Boden des Becherglases noch auf dem Papier Kupferoxydul sichtbar sein.

Die gut abgetrockneten Röhren werden 3—4 Min. bei 150—180° C im Lufttrockenschrank getrocknet und nach dem Erkalten gewogen. Mit Rücksicht auf ihren Gewichtsverlust, besonders im Beginn ihres Gebrauches, empfiehlt es sich, dieselben sofort zu reinigen, zu trocknen und zu wiegen, um den Gewichtsverlust in Rechnung zu ziehen.

Durch Multiplikation des Gewichtes des Kupferoxyduls mit 0,888 bekommen wir das Gewicht des Kupfers. Da statt der üblichen 0,25 g nur 0,0625 g Dextrose zur Anwendung kamen, muß in den Weinschen Tabellen die der 4fachen Menge Kupfer entsprechende Zuckermenge gesucht werden. Die so erzielten Resultate stimmen mit jenen, welche nach der Methode Meissl-Allihn (*Journ. f. prakt. Chem.* Bd. XXII. 1880. p. 46) oder Votoček-Laxa (*Král. spol. nauk. Prag* 1897. 28. Mai) gewonnen wurden, überein.

Die Methode von Kunz (*Zeitschr. f. Untersuchung Nahr.- u. Genußmittel.* Bd. IV. 1901. p. 673), wie sie beim Weine angewendet wird, wurde zur Bestimmung der Milchsäure, mit Rücksichtnahme auf die Arbeit von Schardinger (*Centralbl. f. Bakt. etc.* Abt. II. Bd. VIII. 1902. p. 144) angepaßt. Die Auslaugung mit Aether wurde im Extraktionsapparate von Partheil durchgeführt, welcher ursprünglich zur Bestimmung der Borsäure konstruiert war, mittels welches aber Gronover (73. Vers. d. Gesellsch. deutscher Naturf. u. Aerzte in Hamburg. 1901) besonders genaue Resultate bei Bestimmung der Milchsäure erzielte.

Die flüchtigen organischen Säuren wurden mit Wasserdampf überdestilliert und die Fraktionen zu 30 ccm mit dezinormaler Lauge titriert; das verbrauchte Hydrat wurde auf Essigsäure umgerechnet. Die Natronsalzlösung wurde konzentriert, mit Silbernitrat gefällt und der erhaltene Niederschlag aus dem Wasser umkristallisiert. Die Bestimmung des Silbergehaltes in den so gewonnenen langen, schönen Nadeln ergab, daß die flüchtige Säure Essigsäure ist. Im Filtrate von essigsaurem Silber konnte man in keinem Falle Ameisensäure

nachweisen und auch die Bestimmung des Alkohols in der Nährflüssigkeit ergab ein negatives Resultat.

Bei der Untersuchung auf die anderen nicht flüchtigen organischen Säuren nach der Methode Schoorl (Zeitschr. f. angew. Chemie. 1900. p. 367) fand man in allen Fällen einzig nur Spuren der Bernsteinsäure, namentlich dann, wenn man sich der von Neuberg (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXI. 1901. p. 574) angeregten empfindlichen Pyrolreaktion bediente.

Die Menge des in der Glukose, Milch- und Essigsäure enthaltenen Sauerstoffes wurde durch Multiplikation der gewonnenen Resultate mit dem Faktor 0,533 berechnet. Nach der angeführten Weise arbeitend, erhielt ich nachstehende Ergebnisse:

1. Ungeimpfte Versuche.

Versuchsdauer: 11 Tage.

	Versuch No. 1	Versuch No. 6	Mittel
Glukose vorhanden in g	4,626	4,614	4,620
darin enthaltene Sauerstoffmenge in g	2,466	2,459	2,462

2. Geimpfte Versuche in Luftatmosphäre.

a) Versuchsdauer: 11 Tage.

	Versuch No. 2 Bacterium coli	Versuch No. 3 Bacillus typhi
Geimpft mit		
Glukose vorhanden in g	2,143	3,771
darin enthaltene Sauerstoffmenge in g	1,142	2,010
Glukose vergoren in g	2,477	0,849
darin enthaltene Sauerstoffmenge in g	1,320	0,452
Glukose vergoren in Proz.	58,614	18,376
Milchsäure vorhanden in g	0,765	0,393
darin enthaltene Sauerstoffmenge in g	0,408	0,209
d. h. Milchsäure in der Lösung in Proz.	0,153	0,079
Essigsäure vorhanden in g	0,687	0,167
darin enthaltene Sauerstoffmenge in g	0,366	0,089
d. h. Essigsäure in der Lösung in Proz.	0,137	0,033
Kohlendioxyd gefunden in g	1,329	0,041
darin enthaltene Sauerstoffmenge in g	0,967	0,029
gefundene Sauerstoffmenge im ganzen in g	1,741	0,327
dieselbe abgezogen von der in der vergorenen Glukose enthaltenen Sauerstoffmenge gibt in g	— 0,421	+ 0,125

b) Versuchsdauer: 30 Tage.

	Versuch No. 4 Bacterium coli	Versuch No. 5 Bacillus typhi
Geimpft mit		
Glukose vorhanden in g	0,537	2,724
darin enthaltene Sauerstoffmenge in g	0,286	1,452
Glukose vergoren in g	4,083	1,896
darin enthaltene Sauerstoffmenge in g	2,176	1,010
Glukose vergoren in Proz.	88,376	41,089
Milchsäure vorhanden in g	0,745	0,804
darin enthaltene Sauerstoffmenge in g	0,397	0,429
d. h. Milchsäure in der Lösung in Proz.	0,149	0,161
Essigsäure vorhanden in g	1,457	0,328
darin enthaltene Sauerstoffmenge in g	0,777	0,175
d. h. Essigsäure in der Lösung in Proz.	0,291	0,066
Kohlendioxyd gefunden in g	1,747	0,045
darin enthaltene Sauerstoffmenge in g	1,270	0,033
gefundene Sauerstoffmenge im ganzen in g	2,444	0,637
dieselbe abgezogen von der in der vergorenen Glukose enthaltenen Sauerstoffmenge gibt in g	— 0,268	+ 0,373

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Verschiedenes Wachstum des *Bacillus pyocyaneus* auf Nähragar je nach dessen Wassergehalt.

[Aus der Prosektur des k. k. Kaiser Franz Josef-Spitals in Wien.]

Von Univ. med. Dr. A. Hinterberger und Cand. med. C. Reitmann, Wien.

Mit einer Tafel¹⁾.

Der *Pyocyaneus*-Stamm, welcher für die Untersuchungen, über die hier berichtet werden soll, verwendet wurde, stammt aus dem Sputum einer angeblich an Pneumonie erkrankten 40-jährigen Frau, in dessen Agarkultur er neben Strepto- und Staphylokokken gewachsen war. Die Obduktion des Falles ergab im wesentlichen Pleuropneumonie sowie Mediastinitis und Pericarditis.

Es handelt sich in diesem Falle mithin wohl um ein zufälliges Hinzutreten von *Pyocyaneus* zu einem bereits von anderen Mikroorganismen hervorgerufen gewesenen Prozesse.

Von der Ausgangskultur wurden am 3. Tage nach ihrer Anlegung versuchsweise zu Demonstrationszwecken Deckglaspräparate mit Silbernitrat nach van Ermengen²⁾ angefertigt. Diese zeigten die bekannten Formen der mit einer polaren Geißel armierten *Pyocyaneus*-Bacillen und dazwischen auch stellenweise ganz die gleichen Fadennetze, welche seinerzeit an gleicher Stelle bei gleich behandelten mit Milzbrandkultur-emulsionen beschickten Deckgläsern beschrieben wurden. Die Fadennetze beim Milzbrand waren nur bei aus etwas älteren Kulturen stammenden Emulsionen gesehen worden. Die *Pyocyaneus*-Kulturen, welche diese Fadennetze zeigten, waren aber nur 24 Stunden alt, also noch relativ jung. Es mußte also ein anderer Faktor bestehen, welcher die Bildung der Fadennetze in der Kultur hervorrief oder es mußte das Altern der Kulturen von Milzbrand mit einer Veränderung der Kultur oder des Nährbodens einhergehen, welche bei diesen *Pyocyaneus*-Kulturen auch auftrat.

Es war nun zu dieser Zeit der für diese Kulturen verwendete Agar der Prosektur schon etwas ausgetrocknet. Da im Brutofen stehende Petri-Schalen stets rasch austrocknen und die Fadennetze bei Milzbrand sich immer bei schon etwas älteren Kulturen gezeigt hatten, da ferner [Rossi]³⁾ von feuchtem Agar abgenommene Kulturen bessere Geißelbilder im gefärbten Präparate ergeben als solche, welche auf mehr ausgetrocknetem Agar gewachsen waren, war die Annahme, daß der Wassergehalt des Nährbodens dafür bestimmend sei, ob *Pyocyaneus* nur Geißeln, oder Geißeln und Fadennetze, oder sogar Fadennetze allein bilde, naheliegend. Die sofort angestellten Versuche bestätigten auch diese Vermutung. Feuchter Agar, feuchte Oberfläche des Nährbodens ergab geißeltragende Organismen, trockenerer zeigte geißeltragende

1) Die Tafel ist dazu bestimmt in gewöhnlicher Leseentfernung vom Auge betrachtet zu werden. Sie gibt daher keine weiteren Details bei näherer Betrachtung oder gar bei Lupenbesichtigung.

2) Nach der Modifizierung im Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXX. p. 420 und ebenda Bd. XXXVI. Orig. p. 480.

3) Rossi ebenda. Abt. I. Bd. XXIII. Ref. p. 572.

Bacillen und Fadennetze, sehr trockene Oberfläche des Nähragar brachte nahezu nur Fadennetze und Bacillenkörper hervor und zwar auch schon in ganz jungen, z. B. erst 6—7 Stunden alten Kulturen.

Um die Oberfläche des Nährbodens, auf welche es ja hauptsächlich ankommt, in der Petrischale je nach Wunsch möglichst trocken oder möglichst feucht zu haben, wurden folgende Verfahren eingeschlagen: Dünner Agar (eine gut gefüllte Eprouvette) wurde möglichst abgekühlt in die auf einer mit Eis gekühlten Fläche stehende Petri-Schale ausgegossen und die Schale dann gleich geschlossen. Der dicke (konzentrierte oder ältere) Agar wurde hingegen nur in kleiner Menge heiß in eine gut vorgewärmte Petri-Schale gegossen, welche so lange offen gelassen wurde, als von deren Oberfläche noch Dampf aufstieg. Wenn der Deckel dieser Petri-Schale nach dem Schließen sich doch noch mit Wasserdampf beschlug, wurde er durch einen trockenen Deckel ersetzt. Der dünne Agar zeigte dann eine mit Flüssigkeitströpfchen bedeckte Oberfläche, der dicke Agar eine trockene Oberfläche. Beide Nähragaroberflächen wurden dann mit *Pyocyaneus*-Kultur geimpft und die Schale mit dem feuchten Agar (wenn es dessen weiche Konsistenz erlaubte) mit dem Deckel nach unten, die Schale mit dem trockenen Agar mit dem Deckel nach oben in den Brutschrank eingesetzt.

Die Kulturen auf diesen beiden nur durch ihren Wassergehalt verschiedenen Nährböden zeigen schon makroskopisch ein ganz verschiedenes Verhalten.

Der Rasen auf der feuchten Agaroberfläche ist glatt, glänzend, fast flüssig, blaugrün gefärbt, stellenweise metallisch schimmernd, dick, zeigt auch hier und da irisierende Ränder und erstreckt sich oft über die ganze Fläche des Nährbodens. Die Kultur auf dem trockenen Agar ist blaßgrün gefärbt, matt, stellenweise wie oberflächlich angeätzt aussehend, in der Mitte eventuell etwas gelatinös, am Rand leicht gerunzelt, kaum die geimpfte Fläche überschreitend und dünner gewachsen.

Wenn man mit der Platinnadel von der Kultur abnehmen will, so genügt auf dem feuchten Agar ein leichtes Auftupfen mit der Nadel, um einen Wassertropfen vollkommen entsprechend mit Bacillen füllen zu können. Wenn man aber versucht, von dem Rasen auf dem trockenen Agar etwas abzunehmen, so kann man nur durch festes Abstreifen etwas auf die Nadel bekommen, ja es ist möglich, daß der Rasen dem Nährboden so fest anhaftet, daß man nur mit einer breitgeschlagenen Platinnadel durch Abschaben der Rasenoberfläche, eventuell nur unter Zuhilfenahme von Einschnitten in den Rasen und wirkliches Abschälen eines Rasenteilchens von der Nährbodenoberfläche genügende Mengen zur Emulsion im Wassertropfen bekommt. Dieser Rasen ist seiner Konsistenz nach einem halbtrockenen Anstrich mit Oelfarbe vergleichbar.

Diese Differenzen der Kultur sind am besten bei Verwendung von einerseits sehr altem, durch Eintrocknen schon fast unbrauchbar aussehendem Nähragar und andererseits ganz frisch gemachtem Nährboden zu sehen.

Wenn man keinen genügend alten, also genügend ausgetrockneten Nähragar zur Verfügung hat, so kann man sich leicht konzentrierten Nähragar frisch machen. Es sei hier ganz kurz ein einfaches Verfahren angegeben.

Man zerquetscht fettarmes Rindfleisch mit der Fleischhackmaschine, wiegt 250 g davon ab, gibt es in einem emaillierten Blechtopf ohne

Deckel, gießt einen halben Liter destilliertes Wasser zu, rührt gut um und läßt eine Stunde bei Zimmertemperatur stehen. Dann stellt man den Topf auf den im Betrieb stehenden Küchenherd auf eine seitliche Partie der Herdplatte, wo dessen Inhalt bald auf 60° erwärmt wird und beläßt ihn so 3 Stunden. Dann kocht man das Gemenge eine Stunde stark über dem Herdplattenloche unter öfterem Umrühren. Man filtriert jetzt die Fleischbrühe ab, gibt den zurückbleibenden Fleischbrei in ein feines aber starkes Leinentuch und preßt durch Zusammendrehen der Tuchzipfel und kräftiges Ausdrücken gut aus. Wenn man das gründlich gemacht hat (wodurch man eine ganz nennenswerte Menge von Flüssigkeit noch auf ein zweites Filter bringen kann), gibt man diese Fleischbrühe in eine Flasche und kühlt sie gut in gesalzenem Eisbrei. Man filtriert hierauf die abgekühlte Fleischbrühe (wodurch sie ganz fettfrei wird) in einen gewogenen Kochkolben, gibt 2,5 g Kochsalz und 5 g Pepton nach vorgehender guter Vermengung auf einem Stück Filtrierpapier dazu, erhitzt unter fleißigem Umschwenken und kocht dann das Gemenge etwa 15 Minuten lang, um das Pepton ganz zu lösen. Nach vollkommener Lösung filtriert man wieder, und zwar in einen emaillierten Blechtopf, erhitzt weiter, und neutralisiert die Nährbouillon mit Normalnatronlauge (wobei man weiter kochen läßt), bis einige Tropfen Phenolphthaleinlösung mit einigen Tropfen Nährbouillon in reiner Epruvette übereinander geschichtet gegen ein weißes Filtrierpapier angesehen, an der Grenze ihrer Flächen eben gerade rotstichig werden und gießt die fertige Nährbouillon in den Kochkolben zurück.

Man hat jetzt ca. 150 g neutralisierte Nährbouillon, welche den Gehalt an Nährstoffen hat, den sonst 500 g Nährbouillon aufweisen.

Während das Gemenge von zerquetschtem Fleisch und destilliertem Wasser bei 60° gehalten wurde, wog man 7,5 g Fadenagar ab. Diese Menge wurde in einen kleinen emaillierten Blechtopf gegeben, dieser dann mit Tüll überbunden, worauf darin der Agar erst mit Brunnenwasser etwas abgewaschen und dann mit 5-proz. Essigsäure übergossen und 30 Minuten stehen gelassen wurde. Nach sorgfältigem Auswaschen der Essigsäure mit fließendem Brunnenwasser und destilliertem Wasser wurde der Agar in einem Tuche ausgequetscht, um ihn vom überschüssigen Wasser und den noch entfernbaren Essigsäurespuren zu befreien, und in den Kochkolben zur Nährbouillon gefüllt. (Der Fadenagar besteht nach dieser Vorbereitung aus glasartig glänzenden, wasserhellen, reinen, gequollenen Agarfäden.)

Der Kolben kommt jetzt auf mehrere Stunden womöglich in den Dampfsterilisator, um den Agar teilweise zu lösen und darnach auf eine dicke Asbestunterlage über den Bunsenbrenner, worauf man durch heftiges Kochen den Agar vollends löst. Dabei muß man öfters umschwenken und die Flamme gut regulieren, sonst kocht der Nähragar über oder brennt an. Der Agar muß vollkommen gelöst sein, was nur durch sehr starkes Kochen erreicht werden kann.

Der Nähragar enthält jetzt in ca. 225 g jene Menge von gelatinierenden und ernährenden Stoffen, welche sonst in 500 g Nähragar enthalten sind. Der Nähragar ist etwas getrübt, doch das ist Nebensache. Das Filtrieren des Agars ist lästig und scheint (für diesen Zweck wenigstens) ganz nebensächlich. Die Stoffe, welche man abfiltrieren könnte, sinken in der Petri-Schale während des Erkaltes des Agars ohnedies zu Boden oder bleiben bei vorsichtigen Ausgießen der Epruvette

in der Eprouvette zurück. Hier handelt es sich ja übrigens nur um die Oberfläche des Nähragars.

Die Behandlung des Fleisches entspricht ungefähr den Angaben von Petri und Maassen¹⁾; die Vorbereitung des Agars mit Essigsäure hat Tischutkin²⁾ angegeben. Der Nährboden ist also ganz gewöhnlicher Nähragar, nur von hoher Konzentration. Doch ist er meist noch zu wenig konzentriert. Er muß daher entweder durch Abdampfen in einer Abdampfschale auf dem Wasserbade noch weiter konzentriert werden oder man kann, wenn man bequem fließendes Wasser in der Nähe hat, während des Kochens des konzentrierten Agars auf dem Bunsenbrenner mit einer Wasserstrahlpumpe aus dem Kochkolben den sich bildenden Wasserdampf absaugen bis nur mehr 120–140 g Nähragar³⁾ im Kolben sind, was ja mit der Wage stets feststellbar ist.

Wenn man sich zugleich sehr dünnen Nähragar bereiten will, so macht man sich einfach die doppelte Menge Nährbouillon, teilt sie in zwei Hälften und macht aus der zweiten Hälfte durch Zugabe von H₂O und Agar einen zweiten Nähragar, welcher dann die gleichen Mengen von Nährstoffen und gelatinierenden Stoffen wie der konzentrierte Agar in 1000 g seines Gewichtes enthält.

Die beiden Bilder von geißeltragenden *Pyocyaneus*-Bacillen stammen von in Bruttemperatur auf sehr dünnem Nähragar 24 Stunden lang gewachsenen Kulturen. Man sieht an den Präparaten die Geißel des *Pyocyaneus* ziemlich oft nicht in der Achse des Bacillenkörpers stehend. Das dürfte das normale sein.

Die Verschiedenheit der Färbung von Körper und Geißel kann man an günstigen Präparaten auch bei *Pyocyaneus* sehen. Moore⁴⁾ hat ja bekanntlich die Verschiedenheit der Substanz des Bakterienkörpers und der Bakteriengeißel bereits erwähnt.

Trenkmann⁵⁾ hat seinerzeit angegeben, daß die Geißel von *Spirillum undula* die Kapsel durchdringe und aus dem Körper entspringe. Bei *Pyocyaneus* sieht man zuweilen Bilder, die auch diese Wahrnehmung zu zeigen scheinen. Wenn man aber genau zusieht, so merkt man, daß das eine Täuschung ist. Die Kapsel färbt sich nämlich meist viel schwerer als die Geißel und ihrer Kontur ist dann wesentlich dünner als die Geißel. Ist die Kapsel nur schmal, so glaubt man wirklich die Geißel am Körper entspringend zu sehen, weil sich die dicke schwarze Geißel dem Blicke gewissermaßen bis zum Körper hin fortsetzt. Man sieht ja auch bei einer mit „Raster“ gemachten Reproduktion eines Photogrammes, Bildes etc. kontinuierliche Linien dort, wo die Lupe unterbrochene Linien zeigt. Bei denjenigen Bacillen aber, wo die Kapsel genügend breit ist, wo die Kontur der Kapsel sich deutlich ausprägt, wo die Kapsel nicht bloß durch einen undeutlich konturierten hellen Saum markiert ist, kann man fast immer deutlich sehen, daß die Geißel an der Kapsel entspringt.

Das zweite Geißelbild zeigt außerdem, daß der Körper des Bacillus

1) Arb. aus der kais. Gesundheitsamt. Bd. VIII. p. 311.

2) Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. IX. p. 208.

3) Es ist selbstredend nicht ganz unmöglich, sogar wahrscheinlich, daß beim weiteren Abdampfen des Agars auf der Abdampfschale auch die chemische Zusammensetzung des Agars sich etwas änderte, besonders da sich der Nähragar dabei ziemlich stark bräunt, doch entzieht sich die irgend genauere Beurteilung dieser Veränderungen wahrscheinlich auch ziemlich der Beurteilung eines Chemikers vom Fach.

4) Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. XX. p. 452.

5) Centralbl. f. Bakt. Bd. VIII. p. 385.

aus der Kapsel herausfallen kann und daß man in diesem Fall die wohl-erhaltene Kapsel mit der anhaftenden Geißel sieht. Dieser Befund spricht wohl auch sehr dafür, daß die Geißel ein Kapselgebilde ist und mit dem Körper des Bacillus nur durch dessen Kapsel zusammenhängt.

Der auf konzentriertem Nähragar gewachsene Rasen gibt nun ein ganz anderes Bild im Präparat. Das große Seitenbild ist ein auf konzentriertem Agar 24 Stunden im Brutofen gewachsener *Pyocyaneus*. Man sieht hier ein spinnengewebeartiges Netz von sehr feinen aus Bacillenhäufchen entspringenden und zu Bacillenhäufchen hinziehenden Fäden, dazwischen wenige isoliert liegende Bacillenkörper mit undeutlich ausgeprägten Kapseln und einige durch ihre Form und auch ihre größere Dicke von dem Fadennetze sich abhebende, sofort als Geißeln erkennbare Gebilde.

Die Fadennetze können sich auch in anderen Formen zeigen.

Zuweilen kann man das ganze Gesichtsfeld von parallel gestellten leicht gewellten an ihren Enden und Kreuzungspunkten oft ein Knöpfchen tragenden Fäden bedeckt sehen (die Parallelstellung ist Folge der Art der Auftragung der Kulturemulsion auf das Deckglas mittels eines Platinhakens, der flachliegend nach Eintauchen in die Emulsion über das Deckglas geführt wird; das Knöpfchen dürfte wohl ein Silberkörnchen sein, welches sich dort anlagerte).

Ferner kann man auch Häufchen von Bacillenkörpern sehen, von welchen nach allen Seiten hin die Fäden radiär ausstrahlen.

Endlich bekommt man zuweilen Präparate, wo einzelne Bacillenkörper sich zeigen, von welchen dicht gedrängt solche Fäden und zwar meist nach einer Seite hin (Effekt des Aufstriches) abgehen. In allen diesen Fällen wird wohl niemand diese Fäden als Geißeln ansprechen wollen. Form, Dimension und Anordnung sind ja von Geißeln grundverschieden.

Die drei kleineren Bilder zeigen uns die erwähnten drei Erscheinungsformen dieser rätselhaften Gebilde.

Wenn der Agar nicht genügend konzentriert ist, so bilden sich geißeltragende, also bewegliche Einzelindividuen und Individuen, welche an den Fadennetzen hängen. Man kann aus solchen Kulturen zweierlei Bilder bekommen. Ueberträgt man nämlich Rasen in einen Tropfen Wasser, ohne ihn darin besonders zu verteilen und streicht man von dem sich mäßig trübenden Wasser auf das Deckglas aus, so erhält man fast nur geißeltragende Einzelindividuen im Präparat. Zerzupft man den Rasen im Wassertropfen mit zwei Platinnadeln, emulgiert ihn dadurch gründlich, dann erhält man ein Präparat, wo man begeißelte Bacillen, abgerissene Geißeln und Teile von Fadennetzen sowie Fadennetze mit daran hängenden Bacillenkörpern sieht.

Ebenso kann man aus Kulturen, welche auf nicht genügend konzentriertem Agar gewachsen sind, welche also viele geißeltragende Bacillen zeigen, die Bilder der Fadennetze bekommen, wenn man die Kulturen älter werden läßt, wenn man sie einige Tage im Brutofen stehen läßt.

Wenn die Oberfläche des konzentrierten Agar doch noch feucht war, kann man, besonders wenn man die Kultur durch sanftes Abtupfen der Oberfläche entnimmt, auch nach 24 Stunden noch viel geißeltragende Organismen, aber wenig Fadennetze antreffen und dies in dem Maße, daß man ganz irre wird und an der eigenen Ansicht zweifelt. Die gleiche Agarplatte kann aber schon 24 Stunden später, also nach

48 Stunden Brut makroskopisch ganz entsprechend aussehen und mikroskopisch sehr schöne Fadennetze ergeben. Die Oberfläche des Agars trocknete eben in diesen weiteren 24 Stunden so weit aus, daß der erwartete Erfolg eintrat.

Ein Verfahren, das sich an die von Koch seinerzeit zur Anlegung von Sputumkulturen angegebene Methode anlehnt, ermöglicht es selbst unter hierfür ungünstigeren Verhältnissen nahezu ausschließlich die Netze bildenden Formen am Deckglase zur Anschauung bringen zu können. Der Umstand, daß es uns leider nicht gelingt, einen chemisch-homogenen Nährboden zu erzielen und selbst wenn wir einen solchen hätten, dieser durch die Kultur selbst in einer unserer Kontrolle sich entziehenden Weise Veränderungen erfährt, ferner die Tatsache, daß die Kultur nicht nur nach der Fläche, sondern auch nach der Höhe zu wächst, bringt es mit sich, daß wir für gewöhnlich nur eine Reihe verschiedener Wachsformen nebeneinander in einem Gesichtsfelde zu sehen bekommen. Wenn weiters ein auch stark trockener Agar in einem mit Wasserdampf gefüllten Thermostaten gestanden hatte, so gibt uns dieser nicht bloß Netze, sondern auch Geißeln im Präparat. Wenn man von so einer Kultur abgenommene Teilchen in mehreren Tröpfchen angewärmten Brunnenwassers hintereinander etwas abspült, wodurch für die geißeltragenden Individuen die Möglichkeit gegeben ist, sich von dem Kulturklümpchen weg in das ihnen gewiß besser zusagende flüssige Medium zu begeben, eine Gelegenheit, die zu ergreifen nur die wenigsten versäumen, so ergibt das restliche Partikelchen etwa im 5. oder 6. Tröpfchen durch Abstreifen von der Platinnadel und Verrühren zerteilt, nahezu nur Netzformationen und keine geißeltragenden Individuen.

Wenn man in der Konzentration des Agars zu weit geht, so wachsen einerseits die Organismen nicht mehr gut, die Körper werden kleiner, färben sich zum großen Teile schwächer und es kann schwierig werden, reine Präparate zu erhalten, weil man immer viel Nährboden beim Abnehmen der Kultur in die Emulsion mitbekommt und dadurch der Grund des mikroskopischen Bildes durch den mitgefärbten, gelösten oder auch sonst chemisch veränderten Nährboden graubraun wird oder braune Flecken bekommt.

Es ist klar, daß die Annahme sich aufdrängen kann, diese Fadennetze, welche sich ja bei höherer Konzentration des Nährbodens bilden, seien nicht ein durch diese Beschaffenheit des Nährbodens bedingtes verändertes Wachstum des Bacillus oder besser gesagt seiner Nebengane, sondern einfach gefärbte Nährbodenteile, welche infolge der schwierigen Abnahme des festhaftenden Rasens der Emulsion beigemischt werden und sich in dieser sonderbaren Form dann im Präparate zeigen.

Dagegen spricht aber, daß man ja manchmal gefärbten Nährboden und Fäden nebeneinander im Präparate sehen kann. Der mitgefärbte Nährboden zeigt sich im Präparat als gleichmäßiger, oft am Ende eines Bacillus klebender brauner Fleck, an dem der Bacillus mit einem etwas verschwommenen Ende gleichsam haftet. Daneben sieht man dann als grauschwärzliche Fäden, verzweigt, verästelt oder netzartig, die beschriebenen Fäden in einer Weise angeordnet, daß man beide Dinge gleich von vornherein als zweierlei ansprechen muß. Nur die Fremdartigkeit des Bildes, die Neuheit der Erscheinung verführt dazu, auf ein Kunstprodukt der Präparation zu denken.

Die Erinnerung an die Zoogloeaformen vieler Bakterien und an die Schleimhüllen mancher Bakterien kann leicht, da man ja begreiflicher-

weise am liebsten neue Formen in erster Linie aus bekannten Formen zu erklären sucht, die Ansicht bilden, daß diese Fäden durch eventuelles Gerinnen einer die Zoogloeaformen bedingenden und beim Aufstreichen auseinander gezogenen Schleimmasse oder durch den gleichen Vorgang aus einer Hülle des *Pyocyaneus* entstehen oder sogar einer vom *Pyocyaneus* sezernierten oder sonst irgendwie durch sein Dasein erzeugten und in der Emulsion durch das Wasser entsprechend veränderten Schleimmasse ihr Erscheinen verdanken. Dann müßten aber doch die Formen, in welchen sich diese Fäden zeigen, etwas weniger verschieden sein.

Die Kapsel kann man oft neben den Fadennetzen noch mit genügender Deutlichkeit sehen. Die Fadennetze oder Fäden können daher auch keine zerrissenen Kapselgrenzen oder auch geronnener und auseinander gezogener Kapselinhalt sein.

Daß man auf einem Deckglas zugleich zahlreiche parallele Fäden ohne Bakterienkörper im Gesichtsfeld, dann Netzwerke mit und ohne Körper, endlich dichte von Bacillenkörpern abgehende Filze sehen kann, ist wohl nur so in ungezwungener Weise erklärbar, daß man ein an den Bacillenkörpern hängendes Filzgewebe annimmt, welches teilweise bei der Emulsion zerrissen und auseinander gezogen wird, teilweise auch erhalten bleibt und so sich als Fäden, als Netzwerk und als ein wurzelartiges Gewebe zeigt.

Besonders die Bilder, wo diese Fäden von einem Bacillenkörper aus pinselartig ausstrahlen, erinnern an die „Nebenwurzeln“ bei Pflanzen.

Wenn man solche Fäden eine Entartungsform der Organismen nennen will, so kann man ja nichts dagegen sagen. Jedenfalls ist aber mit dem Worte „Entartungsform“ sehr wenig gesagt. Das Wort schreckt nur vor weiterer Forschung nach der Natur der Erscheinung ab und ist gewissermaßen eine willkürliche Absperrung eines Weges, den man eigentlich weitergehen könnte und sollte.

Für die Annahme einer wurzelartigen oder „mycelartigen“ Natur dieser Fäden¹⁾ spricht auch die auffallende Adhärenz der Kulturen an der Oberfläche des trockeneren Nähragars im Gegensatz zur fehlenden Adhärenz an dem feuchten Nähragar und die ebenso auffallende Kohärenz des ersteren Rasens, welcher ja oft so dichtgefügt ist, daß man ihn nur stückweise abnehmen kann und wie erwähnt, manchmal mit 2 Platinnadeln im Wasser zerpupfen muß, damit man eine Emulsion bekommt. Der Rasen ist in den Nährboden eingewurzelt, die Bakterienkörper selbst sind durch das verzweigte Geflecht dieser Wurzeln aneinander gekettet.

Von dem Standpunkte ausgehend, daß die überwiegende Mehrzahl der Organisationsverschiedenheiten der verschiedenen Lebewesen einen den betreffenden Lebewesen günstigen Zweck verfolge, kann man sehr leicht eine Erklärung für diese zwei Wachstumsarten finden. Wenn ein *Bacillus pyocyaneus* auf einen nährstoffarmen, feuchten Nährboden kommt, so kann er sich auf dieser feuchten Oberfläche leicht bewegen und muß sich auch bewegen, um seinen Standpunkt wechseln zu können, sobald dort die Nährstoffe verbraucht

1) Der Ausdruck „mycelartig“ kann sich selbstverständlich nur auf die Erscheinungsform beziehen. Im Sinne der botanischen Nomenklatur bezeichnet Mycel eine Wuchsform eines Organismus, welche entweder selbst Dauerform ist oder aber eine solche zu bilden befähigt ist. Einen Anhaltspunkt, der hierfür spräche, haben wir bislang noch nicht gefunden und besteht auch nach dem heutigen Stande unserer Erkenntnis der Fortpflanzungsart dieser Organismen kein Anlaß, danach zu suchen.

sind oder sobald durch Stoffwechselprodukte oder Kontaktwirkung die chemische Zusammensetzung des Nährbodens in der Nähe des Bacillus weitgehender zu Ungunsten des Bacillus verändert ist. Daß Mikroorganismen quantitativ und qualitativ riesige Arbeiten in Bezug auf chemische Umsetzungen ihrer Nährböden leisten können, daß sie durch diese ihre Arbeit ihren eigenen Nährboden oft so verändern, daß er für ihre Existenz nicht mehr taugt, sehen wir ja ganz gewöhnlich bei den Gärungen der Kohlehydrate, der Eiweißkörper etc.

Es wird also für den *Bacillus pyocyaneus*, welcher auf nährstoffarmen Nährboden mit feuchter Oberfläche wächst, nur günstig sein, wenn er seinen Platz ändern kann und er bildet unter diesen Bedingungen Bewegungsorgane.

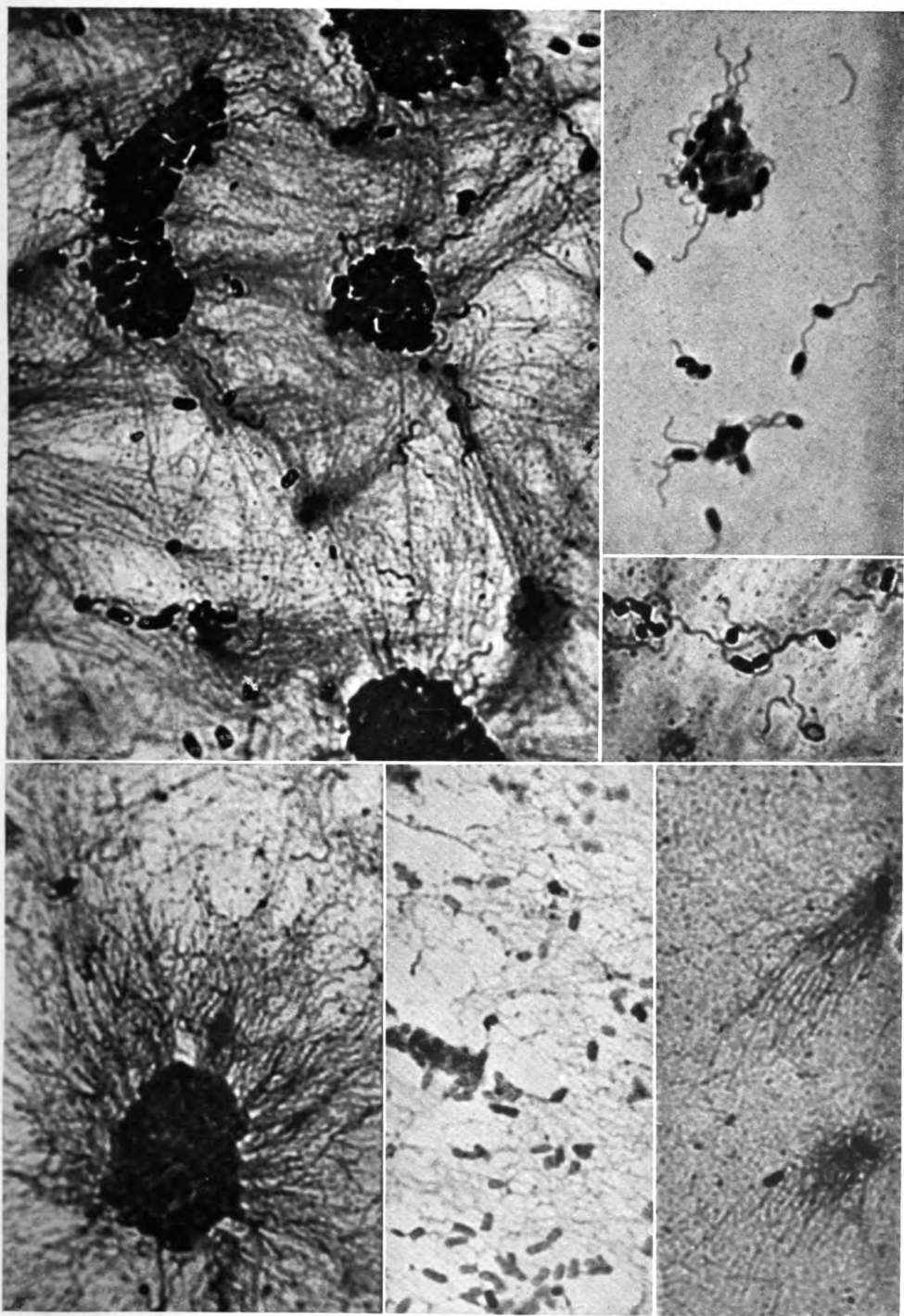
Wenn aber der *Pyocyaneus* auf einem nährstoffreicheren Nährboden mit trockener Oberfläche wächst, dann kann er sich weniger leicht bewegen, findet aber in seiner Umgebung viel umsetzbares Material. Er bleibt an seinem Platz, bildet Wurzeln, und holt sich Nahrung mit diesen Wurzeln, die er immer weiter vorschiebt, je mehr Nährstoff er eben seinem Nährboden entnommen hat, je mehr er den Nährboden in seiner nächsten Umgebung in für seine Existenz ungünstige chemische Verhältnisse umgesetzt hat.

Das ist selbstredend keine irgend bewiesene Ansicht, das ist nur ein Erklärungsversuch dieser beiden Wachstumsvchiedenheiten dieses Bacillus.

Auf Grund dieser an gefärbten Deckglaspräparaten gemachten Beobachtungen mußte sich selbstverständlich die Frage aufwerfen, wie es sich mit der aktiven Beweglichkeit der verschiedenen Formen verhalte. Die bezügliche Untersuchung wurde im hängenden Tropfen vorgenommen. Die wie sonst hergestellte Emulsion zeigte sich bei der „feuchten“ Kultur bei Betrachtung mit starkem Trockensystem (Reichert 8a Oc. IV) als eine vollständige, alle Einzelindividuen bewegten sich einzeln oder in Strömen vollständig frei von jedem Zusammenhange miteinander äußerst rege durchs Gesichtsfeld.

Die einzelnen Individuen zeigten alle um sich einen hellen Hof, welcher sie als ein gleich breit bleibender heller Streifen rings umgibt. Ob diese Erscheinung stets als Kapsel zu deuten ist, oder lediglich eine optische Beugungserscheinung bildet, entzieht sich noch unserer Beurteilung. Die in besonders reger Bewegung begriffenen Bacillen scheinen vielfach bisquitförmig, die Enden der Körper und insbesondere der helle Hof daselbst deutlich verbreitert; wir glauben wohl kaum fehl zu gehen, wenn wir dies als eine subjektive optische Erscheinung deuten. Es pendelt hier offenbar der Bakterienkörper so rasch hin und her, daß unser Auge die einzelnen Bewegungsphasen als solche nicht mehr zu differenzieren in der Lage ist. Das ist ein weiterer Beweis für die eminente Beweglichkeit dieser Mikroorganismen.

Die der „trockenen“ Kultur entstammende Emulsion gab ein von ersterem mehrfach abweichendes Bild. Eine Anzahl von Einzelindividuen zeigte das gleiche Verhalten, wie die aus der „feuchten“ Kultur, andere bewegten sich zwar auch, aber minder rege, andere wieder lagen in großen Gruppen, ohne eine Spur von Bewegung zu zeigen, in größerer Anzahl beieinander und zwar die einzelnen Individuen ziemlich nahe aneinander. Eine vom Suspensionsmedium durch Verschiedenheit des Brechungsindex differenzierbare Zwischensubstanz zwischen den einzelnen Bakterienkörpern war nicht nachweisbar. Zuweilen sah man



Polar begeißelte
Pycnosomenbacillen.
Kultur auf dünnem
Agar.

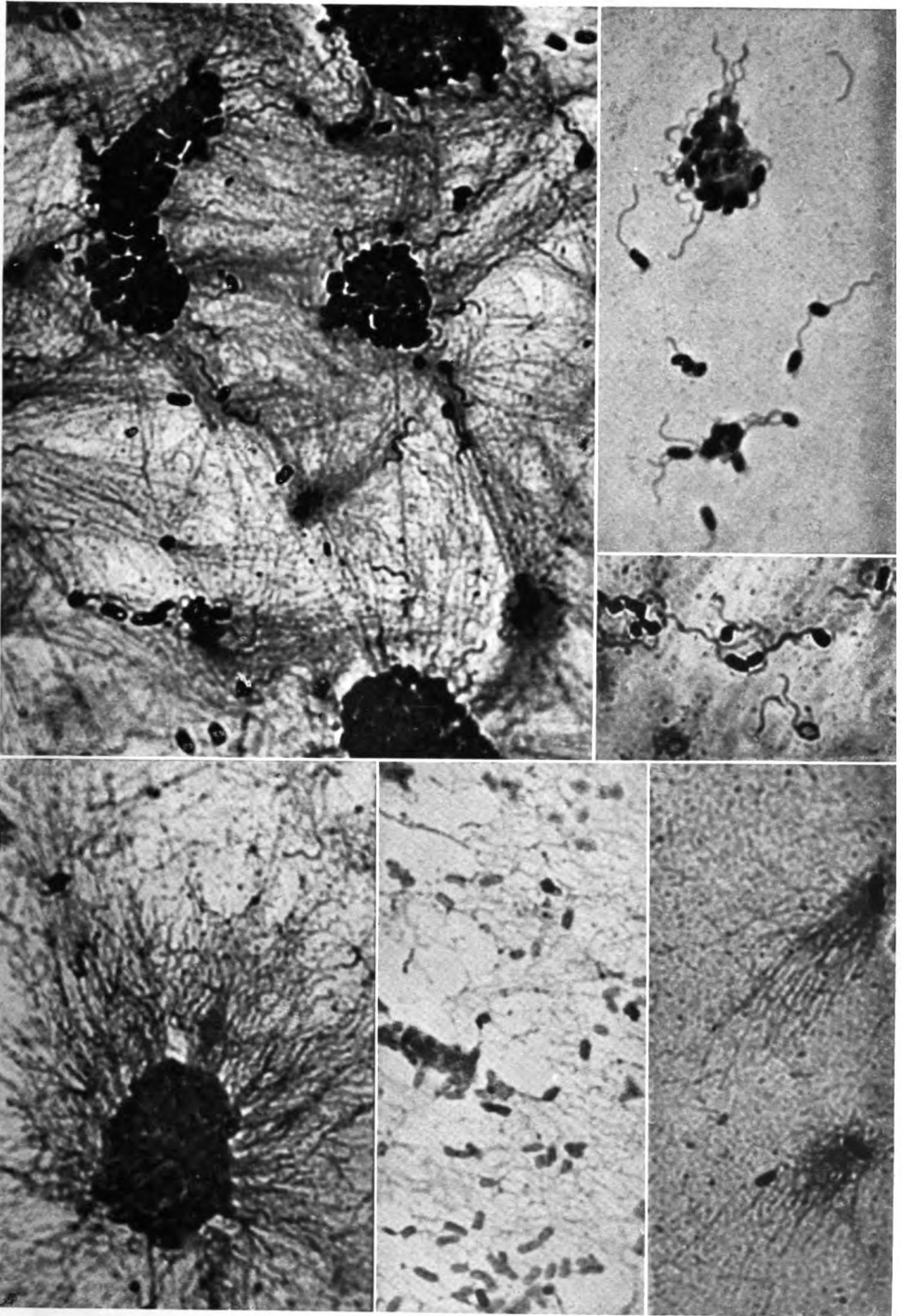
Geißeltträger und eine
leere Kapsel mit
Geißel. Kultur auf
dünnem Agar.

Pinselartig von
einzelnen oder zu
zweit stehenden
Bacillen abgehende
Nebenwurzeln ähn-
liche Fäden. Kultur
auf konzentriertem
Agar.

Lockeres Fadennetz
zwischen Einzel-
individuen. Kultur
auf konzentriertem
Agar.

lockere Fadennetze zwischen
einzelnen Geißeln. Kultur
auf konzentriertem Agar.

Bakterienhäufchen
ausstrahlende Fäden.
Kultur auf konzen-
triertem Agar.



am Rande eines solchen Haufens ein noch einige Bewegungserscheinungen zeigendes Individuum gewissermaßen angeklebt. Kontrollpräparate von denselben Kulturen nach van Ermengem gefärbt, lassen schließen, daß diese bewegungslosen Häufchen mit solchen Fäden und Netze bildenden Bakteriengruppen identisch, diese Formen selbst eben dadurch der aktiven Bewegungsfähigkeit verlustig geworden sind.

Mit Rücksicht auf die vorliegende Frage, was denn die rätselhaften Fäden bei den auf trockenem Agar gewachsenen *Pyocyaneus*-Bacillen seien, mehrfach vorgenommene Versuche, die topischen Beziehungen der Bakterien zu einander und zum Nährboden festzustellen, haben leider zu keinem befriedigenden Resultat geführt. Mit *Pyocyaneus* bewachsene Agarnährböden erwiesen sich uns für diese Zwecke völlig ungeeignet, steril entnommene und als Nährboden verwendete Leichenteile gestatten zwar die Herstellung ziemlich dünner Schnitte ($2\ \mu$) durch Kultur und Nährboden, doch auch hiermit gelang es uns bisher noch nicht, alle Schwierigkeiten technischer Natur zu überwinden.

Solche Schnittpräparate zeigten uns nur, daß der ganze Bakterienrasen keine kompakte aus Bakterienleib an Bakterienleib aufgebaute Masse darstellt, sondern sich vielmehr als ein feinmaschiges Wabenwerk repräsentiert, dessen Wände von den Bakterienmassen gebildet werden. Da die oberflächsten Schichten eine ziemlich gleichförmig dichte Anordnung der Einzelindividuen zeigen, und nahezu glatt sind, dürfte diese Erscheinung nicht aus einer Wuchsform, sondern vielmehr aus der Wirkung gasförmiger oder flüssiger Stoffwechselprodukte der Bakterien zu erklären sein.

Es ist nicht unmöglich, daß das metallische Schimmern mancher Teile des auf feuchtem Agar gewachsenen Rasens von *Pyocyaneus*-Bacillen seinen Grund darin hat, daß diese hier im Schnitte gesehenen verschieden dichten Schichten Teilen des Rasens bei der Betrachtung mit freiem Auge die Farben dünner Platten im auffallenden Lichte geben. Die mikroskopische Untersuchung von an solchen schimmernden Teilen abgenommenem und in Wasser emulgiertem Rasen zeigte nämlich ganz normale *Pyocyaneus*-Bacillen. Es muß also diese Farbenänderung des Rasens auf der Anordnung der *Pyocyaneus*-Bacillen und nicht auf den Bacillen selbst beruhen.

Einem naiven Beobachter würde sich sogar bei der Betrachtung der Unterschiede der Bilder von *Pyocyaneus* folgender Gedanke aufdrängen: „Dieser Mikroorganismus lebt auf dünnem Agar in Form eines mit selbständiger Eigenbewegung ausgestatteten Tieres, auf dickem Agar zumeist in Formen einer dem ernährenden Boden sich einwurzelnden und entsprossenden Pflanze.“ Wir wissen ja, daß der Hauptunterschied zwischen Tier- und Pflanzenwelt im Stoffwechsel liegt. Die Mikroorganismen haben aber einen gar vielgestaltigen absonderlichen Stoffwechsel und eigentümliche Ferment- und andere chemische Wirkungen auf ihre Nährböden. Es ist daher diese oben als die mögliche Ansicht eines von herrschenden Lehren nicht beeinflussten Beobachters hingeworfene Bemerkung vielleicht doch nicht ohne weiteres glatt von der Hand zu weisen.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis der Bakterienflora der erweichten tuberkulösen Herde des Rindes.

[Aus der bakteriologischen Station des Hamburgischen Veterinärwesens.]

Von **Karl Oestern**, Polizeitierarzt in Hamburg.

Einleitung.

Die Tuberkulose, welche die am häufigsten vorkommende Erkrankung der Schlachttiere darstellt und demzufolge auf die größte Wichtigkeit in sanitätspolizeilicher Hinsicht Anspruch machen kann, findet sich bei allen unseren Haustieren. Die Empfänglichkeit der einzelnen Tiergattungen für dieselbe ist jedoch nicht gleich groß, so daß in Bezug auf die Häufigkeit bei den verschiedenen Tierarten große Differenzen sich zeigen. Pferd und Schaf sind außerordentlich wenig empfänglich, während Schweine und Rinder in stärkerem Maße von ihr betroffen werden. Von dem Ziegengeschlechte nahm man früher an, daß seine Repräsentanten überhaupt nicht an Tuberkulose erkrankten, ist aber von dieser Ansicht abgekommen, nachdem sorgfältige Untersuchungen das Unhaltbare dieser Meinung dargetan haben. Von enormer Bedeutung, namentlich in nationalökonomischer Beziehung, ist die Frage, in welchem Prozentsatze diejenigen unserer Haustiere, deren Fleisch zur menschlichen Nahrung dient, von der Tuberkulose befallen sind. Eine genaue Uebersicht über die Resultate der Fleischschau an den Schlachthöfen Preußens gibt die vom kgl. preußischen Ministerium für Landwirtschaft, Domänen und Forsten veröffentlichte Statistik. Nach ihr waren im Jahre 1901 von den geschlachteten Tieren mit Tuberkulose behaftet: 15,2 Proz. Rinder, 0,16 Proz. Kälber, 0,101 Proz. Schafe und Ziegen und 2,55 Proz. Schweine. Von Einfluß auf die Verbreitung der Tuberkulose sind die Art der Haltung, das Alter, Geschlecht, die Milchnutzung etc. Die durch obige Zahlen kenntlich gemachte enorme Ausbreitung der Tuberkulose war der Anlaß, daß eine verhältnismäßig milde Beurteilung derselben bei der Fleischschau in Rücksicht auf die Erhaltung des Nationalvermögens statthaben mußte. Trotzdem sind im Jahre 1901 von den tuberkulös erkrankten Tieren 2,45 Proz. Rinder, 9,50 Proz. Kälber, 6,03 Proz. Schafe und Ziegen und 4,21 Proz. Schweine als zur menschlichen Nahrung ungeeignet gänzlich vernichtet worden. Die Beurteilung des Fleisches tuberkulöser Tiere ist naturgemäß verschieden je nach den einzelnen Formen, in denen die Tuberkulose auftritt. Die diesbezüglichen Vorschriften für das Gebiet des Deutschen Reiches in den Ausführungsbestimmungen zum Gesetze, betr. die Schlachtvieh- und Fleischschau vom 3. Juni 1900 geben hierüber eine Uebersicht, bei der besonders eine strenge Beurteilung bei „Tuberkulose mit Erweichung“ stattfindet. Die Gründe, die hierzu führten, liegen darin, daß man diese Form als besonders gefährlich ansah, weil man die Erweichung der Tuberkulose mit der Ansiedelung von Eitererregern in Verbindung brachte und deshalb eine strenge Beurteilung herbeiführen zu müssen glaubte. Es ist diese Anschauung jedoch immerhin nur eine Vermutung, da irgend welche wissenschaftliche Grundlage für dieselbe durch Untersuchungen bisher nicht geschaffen ist. Außerdem neigt diese Form nach der praktischen Erfahrung besonders zur Gene-

ralisation. Man mag wohl auch als möglich angesehen haben, daß die Eitererreger des Rindes mit denen des Menschen identisch seien. Es ist deshalb von größtem Interesse, einwandsfrei nachzuweisen, ob tatsächlich in den erweichten tuberkulösen Herden der Organe und in den völlig abgeschlossenen tuberkulösen Herden, z. B. in den Körperlymphdrüsen, außer dem Tuberkelbacillus noch andere Mikroorganismen regelmäßig sich vorfinden oder ob der Tuberkelbacillus allein diese Veränderungen hervorruft. Dazu käme noch in Frage, ob gegebenenfalls diese Mikroorganismen die bis jetzt bekannten Eitererreger des Rindes sind oder ob sie identisch sind mit den menschlichen. Diese Kenntnis könnte auf die Beurteilung des Fleisches Einfluß gewinnen; denn wenn der strikte Beweis erbracht würde, daß die Erreger der Erweichungsherde beim Rinde resp. die darin vorkommenden Eitererreger nicht identisch sind mit denen beim Menschen, also auch in sanitärer Hinsicht letzterem nicht schaden könnten, so wäre die strenge Beurteilung bei der „Tuberkulose mit Erweichung“ nicht gerechtfertigt. Wenn sich aber die Identität beider Erreger herausstellt, so ist auch dann ein klares Untersuchungsergebnis wünschenswert, weil man dann die einschlägige Bestimmung des Fleischbeschaugesetzes als durchaus berechtigt anerkennen und auf strenge Durchführung desselben dringen muß. Diese Erwägungen sind die Gründe für meine Untersuchungen. Indessen bin ich auch aus rein wissenschaftlichem Interesse dieser Frage näher getreten, um, wenn möglich, zur Klärung einer noch streitigen Anschauung beizutragen.

Literatur über die Eitererreger beim Rinde.

Ueber die Erreger der beim Rinde vorkommenden Eiterungen ist absolute Klarheit noch nicht vorhanden; im Gegenteil stehen sich die Autoren, die sich mit dieser Materie befaßt haben, in ihren Ansichten gegenüber. Denn die einen, Lucet und de Jong, meinen, daß die Erreger der Eiterung beim Rinde nicht identisch sind mit denjenigen beim Menschen, während andererseits Künemann wenigstens eine solche Vermutung ausspricht. Vorweg darf ich erwähnen, daß ich an Eitererregern bei meinen Untersuchungen der erweichten tuberkulösen Herde nur Kokken gefunden habe. Deshalb kann ich mich bei der Betrachtung der Literatur der Eitererreger des Rindes hier darauf beschränken, die Angaben über die Kokken allein wiederzugeben. Den beim Rinde als Eitererreger genannten *Bacillus pyelonephritidis bovis* (Enderlen und Höflich), den *Bacillus pyogenes bovis* (Künemann) und die 3 stäbchenförmigen Lucets, den *Bacillus* Vöges, oder den Nekrosebacillus habe ich in den Herden nicht gesehen. Die Angaben über die Kokken aber müssen um so mehr beachtet werden, als bekanntlich auch beim Menschen Kokken die gewöhnlichen Eitererreger sind. Lucet hat in 52 Fällen den Eiter von Rindern auf die in demselben vorhandenen Bakterien untersucht. Der Eiter stammte in 32 Fällen aus gewöhnlichen, chirurgisch eröffneten Abscessen, 11mal aus pyämischen Herden und zwar solchen, die in 7 Fällen im Anschlusse an die Geburt, in 3 Fällen bei Kälbern im Anschlusse an eine Omphalophlebitis und in einem Falle an eine Phlegmone entstanden waren, in 9 Fällen handelte es sich um Eiterungen, die nach einem Trauma aufgetreten waren. Lucet fand Bakterien, die er als besondere, für das Rind charakteristische Eitererreger ansieht, und zwar deren 5. Diese 5 Arten traten konstant und in größerer Menge im Eiter auf, häufig einzeln oder

mehrere zusammen, oft in Reinkultur. Er benannte dieselben folgendermaßen: 1) *Staphylococcus pyogenes bovis*, 2) *Streptococcus pyogenes bovis*, 3) *Bacillus crassus pyogenes*, 4) *Bacillus liquefaciens pyogenes bovis* und 5) *Bacillus pyogenes bovis*.

Am häufigsten fand sich der *Streptococcus*, nächst dem der *Bacillus pyogenes*, dann der *Bacillus liquefaciens pyogenes*, während der *Staphylococcus* und *Bacillus crassus* seltener waren. Unter den 52 Fällen war der *Streptococcus pyogenes bovis* allein 9mal, der *Staphylococcus pyogenes bovis* allein 2mal, der *Bacillus pyogenes bovis* allein 6mal, der *Bacillus liquefaciens pyogenes bovis* allein 4mal und der *Bacillus crassus pyogenes bovis* allein 1mal vorhanden.

In den anderen Fällen fanden sich zwei oder mehrere der oben genannten Bakterien zusammen vor oder nebenbei noch andere, nicht näher bezeichnete saprophytische Keime. Lucet gibt von den bezeichneten Eiterkokken folgende Beschreibung:

1) *Staphylococcus pyogenes bovis* ist kleiner als *Staph. pyog. hom.*, unbeweglich, färbt sich mit den gewöhnlichen Anilinfarben sowie nach Gram. Auf Agar bildet er einen grauen, körnigen, trockenen Belag mit gezähnten Rändern, im Stiche punktförmige Kolonienbildung. In der Agarplatte bilden sich kleine, runde, graue, wenig entwickelte Rasen. Er verflüssigt Gelatine nicht, Bouillon wird in den ersten 24 Stunden leicht getrübt. Die Trübung klärt sich aber bald, wobei sich ein grauer, nicht adhärenter Bodensatz abscheidet. Auf Kartoffeln bildet er einen dünnen, matten, kreidigen Belag. Für Meerschweinchen und Kaninchen ist er bei jeder Art der Impfung nicht virulent.

2) *Streptococcus pyog. bovis*, ist unbeweglich und bildet besonders in flüssigen Nährböden sehr lange Ketten, verflüssigt Gelatine nicht und wächst nicht auf Kartoffeln. Er trübt die Bouillon zunächst, sie klärt sich darauf wieder, und es scheidet sich ein pulveriger Bodensatz ab. Er ist weder bei subkutaner noch intraperitonealer oder intravenöser Injektion für Meerschweinchen und Kaninchen pathogen.

Die Beschreibung der Stäbchen berücksichtige ich aus dem oben genannten Grunde nicht.

De Jong gelang es, aus metastatischen Muskelabscessen des Rindes einen *Staphylococcus* zu züchten, den er für identisch hält mit dem Lucetschen *Staph. pyog. bovis*. Doch zeigte derselbe geringe Unterschiede hinsichtlich der Wachstumserscheinungen und Bedingungen. Er wächst gut auf den gewöhnlichen Nährböden, ist unbeweglich, färbt sich leicht und gut mit den üblichen Anilinfarben; die Größe schwankt zwischen 0,6—1 μ . Bemerkenswert ist das Verhalten in Gelatineplatten, in welchen sehr bald, in 24—48 Stunden, kleine, weißlichgelbe oder gelbe, ovale, kugelige Kolonien mit scharfen Konturen und daneben sparsamer größere, weiße Rasen, die weniger scharf umschrieben, mehr glatt waren und einen dunkeln Kern aufwiesen, aufgingen. Bisweilen ist der Unterschied zwischen den gelben und weißen Kolonien so prägnant, daß man zwei verschiedene Bakterien vor sich zu haben glaubt. Auf dem Boden der Platte können sich die weißen Kolonien zu milchweißen Scheiben ausbreiten. In vielen Fällen wird später die Farbe der gelblichen Kolonien hochgelb. Auf stärkerer Gelatine bildet der *Staphylococcus* entweder gelbe, runde Tropfen oder gelbe bis goldfarbene Beläge, im Stiche sieht man weiße bis gelbe, runde oder ovale Kolonien, bei reichlicherem Wachstum einen gleichfarbigen Streifen mit gesägten Rändern ohne Verflüssigung, während an der Oberfläche ein kleiner, ziemlich starker Ueberzug mit abgerundeten Rändern, welcher die Wand des Röhrchens nicht erreicht, allmählich zum Vorschein kommt. Bouillon wird getrübt, der sich bildende Bodensatz erweist sich als adhären. Milch wird nicht zum Gerinnen gebracht. Er bildet in den meisten Kulturen einen weißgelben Farbstoff; wird er bei 37° gezüchtet, so sind die Kolonien meist weiß, bei gewöhnlicher Temperatur werden dieselben gelb. Die alkalische Reaktion der Nährböden wird erst nach ziemlich langer Zeit sauer. Sehr gering war, wie Lucet fand, die Virulenz; nach intraperitonealer, subkutaner und intravenöser Injektion beim Kaninchen, Meerschweinchen und Hunde tritt keine Erkrankung ein. Nur Verimpfungen in die Augenkammer rufen bei obigen Tieren Iritis oder Panophthalmitis hervor. Er unterscheidet sich ebenfalls vom *Staphylococcus pyog. aureus hom.* und *albus hom.* dadurch, daß er Gelatine nicht verflüssigt.

Beide Autoren sind demnach bei ihren Untersuchungen über die Eiterkokken des Rindes zu dem übereinstimmenden Endergebnisse gelangt, daß diese andere Bakterien als die im Eiter des Menschen für gewöhnlich gefundenen Eitererreger, der *Staphylococcus pyogenes aureus*, *albus* und *citreus* und *Streptococcus* darstellen. Sie weisen demgemäß den Eiterungen des Rindes gegenüber denjenigen des Menschen in ätiologischer Hinsicht eine Sonderstellung zu.

Auf Grund angestellter Untersuchungen hat späterhin Künnemann dagegen der Vermutung Raum gegeben, daß die beim Rinde vorkommenden Staphylokokken mit dem *Staphylococcus pyogenes albus* und *aureus hominis* zu identifizieren seien, obwohl nicht zu verkennen wäre, daß zuweilen geringe Unterscheidungsmerkmale sich kenntlich machten.

Künnemann untersuchte in 42 Fällen den Eiter aus Abscessen und fand in 38 Fällen in ihm kurze, feine Stäbchen, die in ihrer Form und ihren Größenverhältnissen gewisse Ähnlichkeit mit den Rotlaufbacillen besaßen. Sie fanden sich 15mal isoliert vor, 23mal vergesellschaftet mit anderen Mikroorganismen. Neben diesen wurden von K. verschiedentlich Nekrosebacillen, ovoide, den Kolonbacillen ähnliche Mikroorganismen, 3mal Streptokokken und 14mal Staphylokokken teils gemeinsam mit dem *Bacillus pyog. bovis* und 1mal *Staphylococcus* allein nachgewiesen. Nach ihm fanden sich die Streptokokken als Diplokokken und in Form von kurzen Ketten. In Agarplatten bildeten sie auf der Oberfläche kleine, tröpfchenförmige Kolonien, auf Agarstrich einen anfangs durchsichtigen, feinen Belag, der später mehr undurchsichtig wurde und eine gelblich-graue Farbe annahm. Bouillon wurde nicht getrübt. Es bildete sich ein flockiger Bodensatz. Den Mäusen, Meerschweinchen und Kaninchen gegenüber waren sie nicht pathogen. Von Lucetschen Streptokokken unterschieden sie sich durch die Bildung von kürzeren Ketten. Da sich die in dem Eiter des Rindes von Lucet und de Jong gefundenen Staphylokokken von denen des Menschen hauptsächlich dadurch unterscheiden, daß sie Gelatine nicht verflüssigten, so hat Künnemann bei seiner Untersuchung über Eiterungen sein Hauptaugenmerk auf diese Tatsache gerichtet. Nach ihm verflüssigten die isolierten Staphylokokken mit Ausnahme eines Falles die Gelatine, wobei allerdings in den Zeitpunkte der beginnenden Verflüssigung bedeutende Unterschiede bemerkt wurden.

Zwischen dem *Staphylococcus pyog. aureus* und *albus* bestand in dieser Hinsicht keine Verschiedenheit. *Staphyl. pyog. albus* fand er im Eiter 10mal vor, den *Staphyl. pyog. aureus* 1mal und in 4 Fällen wurden beide gemeinsam angetroffen. Die Bildung von Farbstoff war niemals so ausgesprochen goldgelb wie beim *Staphyl. pyog. aureus hom.* Der in dem einen Falle vorgefundene Coccus, der Gelatine nicht verflüssigte, war bedeutend größer als die gewöhnlichen Eiterkokken. Eine Prüfung auf die pathogenen Eigenschaften aller Stämme der isolierten Staphylokokken nahm Künnemann nicht vor. Die eiterungserregende Wirkung prüfte er aber, und es zeigte sich, daß nach subkutaner Injektion von Bouillonkulturen oder Agarstrichkulturaufschwemmungen beim Rinde an der Impfstelle keine Veränderung oder höchstens nur eine bald wieder verschwindende Anschwellung auftrat, ohne daß es zur Absceßbildung kam. Beim Kaninchen entstand nach subkutaner Injektion in einem Falle ein Absceß, während sonst bei Meerschweinchen, Kaninchen und Mäusen durch subkutane Einverleibung der Kulturen keine Veränderung sich einstellte. Die Virulenz dieser aus dem Rindereiter gezüchteten Staphylokokken war also sehr gering.

Künnemann glaubt, daß die Kokken identisch sind mit dem *Staphylococcus pyogenes albus hominis* und *aureus hominis*. Die von Lucet und de Jong gefundenen und näher beschriebenen Staphylokokken unterscheiden sich von den durch Künnemann untersuchten lediglich dadurch, daß sie Gelatine nicht verflüssigen. Ob es sich bei diesen um eine besondere Art handelt, sagt Künnemann, müssen weitere Untersuchungen entscheiden. Selten haben sich dagegen Autoren schon bestimmt ausgesprochen, den menschlichen *Staphylococcus pyogenes aureus* und *albus* beim Rinde gefunden zu haben, übrigens durchweg, ohne besonders eingehende Untersuchungen mitzuteilen. Bei einer Kuh sah Haas in den Produkten einer eiterigen

Osteomyelitis und dem Eiter von Abscessen den *Staphylococcus pyogenes aureus* und *albus* und Lucet züchtete sowohl gelegentlich aus Abscessen pyogene Staphylokokken wie auch bei einem phlegmonösen Erysipel einer Kuh einen *Streptococcus*, den er nicht von demjenigen des menschlichen Erysipels unterscheiden konnte. Experimente hinsichtlich der Uebertragbarkeit der menschlichen Staphylo- und Streptokokken auf das Rind nahm Künnemann vor. Nach ihm erzeugt die subkutane Injektion von *Streptococcus pyogenes hominis* beim Rinde keine Eiterung, nach der Einspritzung von Kulturen des *Staphylococcus pyogenes aureus* und *albus hominis* trat an der Impfstelle eine geringgradige Schwellung auf, welche in 8 Tagen wieder völlig zurückging. Alle sonstigen Angaben über die Streptokokken sind nur kurze Notizen, so die von Crookshank und Bournay, und können hier unberücksichtigt bleiben. Wie ersichtlich, herrscht über die Eiterkokken des Rindes noch die größte Unklarheit, und was die Beteiligung derselben bei den erweichten tuberkulösen Herden angeht, so findet sich hierüber in der Literatur überhaupt noch keine Angabe, wie auch die erweichten Herde auf ihre sonstige eventuell vorhandene Flora noch von keiner Seite geprüft sind.

Geleitet durch diese Erwägungen und in Hinsicht auf die Beurteilung des Fleisches von tuberkulösen Tieren mit erweichten Herden habe ich es deshalb unternommen, diesen Fragen näher zu treten und durch eingehendere Untersuchungen festzustellen, welche Mikroorganismen in den erweichten tuberkulösen Herden regelmäßig, und welche gelegentlich anzutreffen sind, und ob die darin vorkommenden Eitererreger mit den menschlichen identisch sind oder nicht. Nach Besprechung der Literatur über die Eitererreger darf ich nun meine eigenen Untersuchungen über die erweichten tuberkulösen Herde mitteilen.

Kasuistik.

Die Untersuchung erstreckte sich auf 32 Fälle. In der Beschreibung lasse ich hier zuerst die Fälle der Reihe nach hinsichtlich der pathologisch-anatomischen und mikroskopischen Befunde folgen, um nachher im besonderen Abschnitte die Ergebnisse der Kulturversuche und die Prüfung der gewonnenen Bakterien anzuschließen.

Beschreibung des untersuchten Materials und des mikroskopischen Befundes.

Fall 1.

4 Jahre alte Kuh, in gutem Ernährungszustande. Die Bronchialdrüse ist von Faustgröße, fühlt sich derb an und läßt beim Einschnneiden ein knirschendes Geräusch hören. Sie besteht aus zahlreichen Knötchen von Stecknadelkopf- bis Hirsekorngröße, die mit einer grauweißen, trockenen, mörtelartigen Masse angefüllt sind. Die einzelnen Knötchen konfluieren zum Teil und enthalten im Zentrum eine trübe, gelblich-weiße Masse. Die ganze Drüse ist von einer derben Bindegewebkapsel umgeben. Die Lunge befindet sich in Expirationsgröße, ist von rosaroter Farbe und zum größten Teile knisternd. Die Schnittfläche ist glatt und fast trocken. In dem unteren Teile des rechten Hauptlappens findet sich ein ca. 3 Lobuli umfassender, scharf interlobulär abgesetzter Herd mit trüber, rauher Pleura. Die Trübung beschränkt sich nur auf den Umfang dieses Herdes. Die interlobuläre Abgrenzung ist ausgesprochen deutlich. Die Schnittfläche dieses Herdes ist graurötlich, mäßig feucht und ist von unregelmäßiger Zickzackform; darin eingesprengt sind zahlreiche graugelbe, trockene und käsige Herde. Das interlobuläre Bindegewebe um diesen Herd ist sehr verdickt und bildet einen derben, speckigen Bindegewebszug. Herde von gleicher Beschaffenheit finden sich noch am gewölbten Rande des linken Hauptlappens. Die Portaldrüsen sind geschwollen und mit hirsekorngroßen, graugelben Knötchen, die eine trockene, mörtelartige Masse ent-

halten, angefüllt. In der Lebersubstanz finden sich 2 taubeneigroße Knötchen mit gelblich-weißem, rahmartigem Inhalt. Umgeben ist jeder Herd von einer starken, speckigen Bindegewebskapsel. Sämtliche Körperdrüsen sind stark vergrößert. Die rechte Bugdrüse ist hühnereigroß und entleert auf dem Einschnitt ca. $\frac{1}{2}$ l einer gelblich-weißen, etwas fadenziehenden, geruchlosen Masse von salbenartiger Konsistenz. Umgeben ist die ganze Drüse von einer derben, fibrösen Bindegewebskapsel. Die mikroskopische Untersuchung der gelblich-weißen, rahmartigen Masse ergab nach der Färbung des Ausstrichpräparates mit Karbolfuchsin sowie nach Gram das Vorhandensein einzelner Kokken. Nach der Ziehl-Geßbetschen Färbemethode fanden sich einzelne Tuberkelbacillen. In den angelegten Platten wuchsen nur rein weiße, lackartige Staphylokokkenkolonien.

Fall 2.

Quien, $1\frac{1}{2}$ Jahre alt und in gutem Ernährungszustande befindlich. Die Bronchial- und Mediastinaldrüsen sind stark vergrößert, fühlen sich derb an und knirschen auf dem Einschnitte. Sie bestehen aus zahlreichen hirsekorn- bis erbsengroßen, grauweißen Knötchen. Die einzelnen Knötchen enthalten eine trockene, klümperige Masse und gehen zum Teil ineinander über. Umgeben ist jeder Herd resp. mehrere kommunizierende von einer derben, festen Bindegewebskapsel. Die Lunge selbst ist intakt. In den Portaldrüsen sind hanfkorn- bis haselnußgroße Knoten eingelagert, die eine mörtelartige, kalkige, chromgelbe Masse enthalten. Das Zentrum jedes Knötchens ist mit einer trüben, käsigen Substanz angefüllt. In der Lebersubstanz finden sich 5 taubeneigroße Knoten, die auf dem Einschnitte einen käsigen, grauweißen, schleimigen Inhalt entleeren. Ein großer Teil der Gekrödrüsen ist mit ebensolchen Veränderungen (Tuberkeln) wie die oben genannten Drüsen behaftet. Das Peritoneum ist in seiner ganzen Ausdehnung mit zahlreichen hirsekorn- bis walnußgroßen Knötchen besetzt, die auf dem Durchschnitt eine grauweiße Farbe zeigen und aus trockenem, mörtelartigem Inhalte bestehen. Die retropharyngealen Lymphdrüsen sind doppelt faustgroß und von derber Konsistenz. Auf dem Einschnitte zeigen sie sich mit einer grauweißen, festen, käsigen Masse angefüllt. Von sonstigen Drüsen ist noch die linke Kniefalten- und rechte Darmbeindrüse erkrankt. Beide sind stark vergrößert und leicht fluktuierend, auf dem Einschnitte entleert sich ein schmutzig-weißgrauer, eiterähnlicher Inhalt. Derselbe ist fadenziehend, von schleimig-eiteriger Konsistenz und geruchlos.

Die mikroskopische Untersuchung dieses in der linken Kniefalten-, rechten Darmbeindrüse sowie in den erweichten Herden der Leber aufgefundenen, eiterähnlichen Inhalts zeigte nach Färbung des Präparates mit Karbolfuchsin sowie nach Gram ganz vereinzelte Kokken. Eine Färbung der Präparate auf Tuberkelbacillen ließ keine Stäbchen hervortreten. In den aus diesem eiterähnlichen Inhalte angelegten Platten gingen weiße und goldgelbe Staphylokokkenkolonien reichlich auf, in dem Verhältnis so, daß etwa 70 Proz. weiße und 30 Proz. gelbe unter ihnen waren.

Fall 3.

Gut genährte, 5-jährige Kuh. Bronchial- und Mediastinaldrüsen tuberkulös erkrankt. In dem Lungengewebe finden sich zahlreiche, erbsengroße, grauweiße Knötchen, die mit einer kalkigen, mörtelartigen Masse angefüllt sind; daneben noch 2 halbkugelförmige Knoten, die konfluieren und einen schleimig-wässrigen, gelben Inhalt entleeren. Nach der Peripherie zu ist derselbe von mehr käsiger Konsistenz.

In Ausstrichpräparaten sind nur nach Ziehl-Geßbetscher Färbung vereinzelte Tuberkelbacillen aufzufinden. In den aus dieser schleimig-wässrigen Masse angelegten Platten wuchsen keine Bakterien.

Fall 4.

4 Jahre alte, gut genährte Kuh. Die Lunge befindet sich in Retraktionsgröße. Die Mediastinaldrüsen sind stark vergrößert, fühlen sich derb an, knirschen auf dem Durchtritt und bestehen aus kleinen, hirsekorngroßen Knötchen, die mit einer kalkigen, mörtelartigen Masse angefüllt sind. Das Zentrum jedes einzelnen Knötchens enthält einen trüben, weißgelblichen, käsigen Inhalt. Jeder Herd, der teils bis Taubeneigröße erlangt hat, ist von einer derben, schwierigen Bindegewebskapsel umgeben. Nach der Peripherie zu ist die ganze ehemalige Drüsensubstanz von einer ebensolchen, $\frac{1}{2}$ cm starken Kapsel umschlossen. Die Lunge selbst ist überall lufthaltig und knisternd. Unregelmäßig zerstreut finden sich eine kleinere Anzahl halbkugelig prominierender, kompakter Lappchen und Lappchengruppen in ihr. Die Pleura pulmonalis über diesen Stellen ist trübe, glanzlos und verdickt. Die Lappchen selbst erscheinen auf dem Querschnitte als Knoten oder Knotenkomplexe mit derber, schwieriger, bindegewebiger Kapsel und gelbgrauem, käsig-eiterigem Inhalte. Die Kapselwand ist auf der Innenfläche lebhaft gerötet und mit roten Granulationsknöpfchen besetzt. Das ver-

breiterte interstitielle Bindegewebe grenzt sich scharf vom benachbarten lufthaltigen Gewebe ab. Die kleineren, den Umfang eines Lobulus einnehmenden Knoten lassen oft deutlich ihre Entstehung aus mehreren kleinen Knötchen nachweisen.

Die mikroskopische Untersuchung dieser käsig-eiterigen Masse zeigte die Anwesenheit vereinzelter Kokken und Tuberkelbacillen. In den Platten wuchsen viele Kokkenkolonien und zwar im Verhältnis von ca. 60 Proz. weißen und 40 Proz. gelben.

Fall 5.

Sehr gut genährte Kuh, 5 Jahre alt. Linke Bronchialdrüse stark vergrößert, faustgroß, sich derb anführend; auf dem Einschnitte entleert sich ein goldgelber, dünnbreitiger, schwach fadenziehender, geruchloser Inhalt. Die ganze ehemalige Drüse ist mit dieser Masse angefüllt, so daß von der Drüsensubstanz nichts mehr vorhanden ist. Umgeben ist der Herd von einer $\frac{1}{4}$ cm dicken, festen, schwierigen Bindegewebskapsel.

Die mikroskopische Untersuchung auf Bakterien nach Färbung mit Karbolfuchsin sowie nach Gram fällt negativ aus, nur nach Ziehl-Gabbetscher Färbung sind ganz vereinzelte Tuberkelbacillen nachweisbar. Durch Anlegen von Platten glückt es, vier schwach gelblich gefärbte Kolonien zur Entwicklung zu bringen, die sich als Staphylokokken erweisen.

Fall 6.

Mäßig gut genährte Färse, 2 Jahre alt. Bronchialdrüsen tuberkulös erkrankt.

Lungen in Expirationsgröße, rosarot und zum größten Teile knisternd. Die Schnittfläche ist glatt, rosarot und fast trocken. Am gewölbten Rande des Hauptlappens in der Nähe der Lungenwurzel ein ca. 4–5 Läppchengruppen umfassender, scharf interlobulär abgesetzter, kompakter, knotiger Herd mit trüber, rauher und glanzloser Pleura. Diese Trübung geht über den Umfang des Herdes nicht hinaus. Die interlobuläre Absetzung ist besonders deutlich auf dem Querschnitte wahrnehmbar. Nirgends ist ein Uebergreifen des Prozesses über das interlobuläre Bindegewebe hinaus zu konstatieren. Die Schnittfläche ist glatt, graurötlich, mäßig feucht und in unregelmäßiger Zickzackform; jedoch in zahlreicher Menge sind darin graugelbe, trockene, käsig-flecke eingesprengt. In der Nähe des Bronchus dieses Läppchens eine ca. erbsengroße Stelle mit gelbgrauem, weichem, käsig-eiterigem Inhalte. Die Höhlenwandung ist glatt und mit dem Bronchus kommunizierend. Handbreit nach rückwärts von diesem Knoten am gewölbten Rande des Hauptlappens finden sich noch 3 ähnliche Herde vor. Gegen die Basis des Hauptlappens zu, mitten im intakten Lungengewebe, findet sich ein ca. walnußgroßer, von einer starken Bindegewebskapsel umgebener, in Form und Größe vollkommen einem normalen Lungenlobulus entsprechender, derber Knoten mit schmierig-käsigem und teilweise klümperigem Inhalt von graugelber Farbe, der sich zwar fast vollkommen, aber nur schwierig aus seiner Kapsel herauschälen läßt. Die Kapselwandung erscheint buchtig, nischig und fleckenweise mit rötlichen Granulationsknoten besetzt. An der Basis des Hauptlappens, über ein größeres Läppchenggebiet unregelmäßig zerstreut, findet sich noch eine große Anzahl linsen- bis erbsengroße Knoten mit teilweise erweichtem, käsig-eiterigem, geruchlosem Inhalte mitten im lufthaltigen Lungengewebe vor. Die Portaldrüsen sind stark geschwollen und mit hirse Korn- bis erbsengroßen, graugelben Knötchen mit käsig-eiterigem Inhalte durchsetzt.

Die mikroskopische Untersuchung der in den erweichten, käsig-eiterigen Herden sich vorfindenden Masse zeigt nach Färbung mit Karbolfuchsin keine Bakterienflora, nach der Gramschen Färbung sind vereinzelte Kokken, ebenfalls nach Ziehl-Gabbet Tuberkelbacillen nachzuweisen. Durch Anlegen von Platten in Agar lassen sich zahlreiche Kolonien isolieren, darunter 10 Proz. gelbliche, die übrigen von weißer Farbe. Die mikroskopische Untersuchung dieser isolierten gelben und weißen Kolonien ergibt die Anwesenheit von Staphylokokken.

Fall 7.

Mäßig genährte Kuh, 6 Jahre alt. Bronchial- und Mediastinaldrüsen sind stark vergrößert und bestehen aus zahlreichen hirse Korn großen, grauweißen Knötchen mit mörtelartigem Inhalte und trübem, gelblichem Zentrum. Die Lungen befinden sich in Retraktionsgröße, sind rosarot und lufthaltig. In der Mitte des rechten Hauptlappens finden sich 2 nebeneinander liegende, ca. faustgroße, derbe Knoten, welche die Oberfläche halbkugelig hervortreiben. Die Pleura pulmonalis darüber ist grauweiß, trübe und verdickt. Gegen die Nachbarschaft setzen sich diese Knoten durch eine mäßig starke, schwierige Bindegewebskapsel ab, welche letztere immer mit den interlobulären Bindegewebszügen zusammenfällt. Die faustgroßen Knoten setzen sich selbst wieder, wie auf der Schnittfläche ersichtlich, aus einer größeren Anzahl gleichfalls interlobulär begrenzter, kleinerer Knoten zusammen; diese kleineren, dem Umfange von ca. 3 bis

4 Lungenlobuli entsprechenden Knoten zerfallen noch einmal in mehrere (meist 4—5) kleinere, durch schwierige Bindegewebszüge voneinander abgetrennte und in Form und Größe normalen Lungenlobuli entsprechende Knötchen. Sämtliche dieser Knoten zeigen eine graugelbe, glatte Schnittfläche und mehr oder weniger trocken-käsigen bis schmierig-eiterigen Inhalt. Gegen den Spitzenrand des Lappens zu hat sich durch Konfluenz einer größeren Anzahl solcher Knoten eine hühnereigroße, glattwandige Höhle mit schmieriger, graugelber, eiterähnlicher, geruchloser Masse gebildet. An der Basis des linken Lungenlappens findet sich noch eine größere Anzahl stecknadelkopf- bis erbsengroßer, mitten im lufthaltigen Lungenlobulus liegender und scharf abgesetzter, graugelber Knötchen mit trübem, käsigem, mörtelartigem Zentrum (lobulär-käsige Pneumonie mit Erweichung). Die Portaldrüsen sind hühnereigroß, fühlen sich hart an, knirschen auf dem Einschnitte und bestehen aus zahlreichen hirsekorn- bis erbsengroßen Knoten mit mörtelartigem, chromgelbem Inhalte und einem trübem, käsig-kalkigen Zentrum. Die Gekrödrüsen in ihrer überwiegenden Mehrzahl sind stark vergrößert und mit verkalktem, bröckeligem, gelbem Inhalte angefüllt.

Die mikroskopische Prüfung dieses erweichten Inhaltes hat keinen Erfolg. Auf angelegten Agarplatten wuchsen 3 schön gelbe Kolonien, die sich bei der mikroskopischen Untersuchung als Staphylokokken erwiesen.

Fall 8.

Färse in gutem Ernährungszustande, 1½ Jahre alt. Bronchialdrüsen faustgroß geschwollen, sich derb anführend, auf dem Einschnitte knirschend, aus zahlreichen hirsekorngroßen Knötchen bestehend, die mit einer kalkigen, mörtelartigen Masse angefüllt sind. Die Lunge befindet sich in Retraktionsgröße, ist rosarot und lufthaltig. An der Lungenwurzel zeigt sich ein über doppelt faustgroßer, beerartiger, kompakter Knoten, nicht knisternd, der sich scharf lobulär gegen die Nachbarschaft absetzt. Seine Oberfläche ist leicht höckerig und die Pleura pulmonalis trübe, glanzlos und lebhaft gerötet. Die Höcker sind graugelb und entsprechen im allgemeinen in Form und Größe den Lungenlobuli. Dies zeigt sich besonders deutlich auf dem Querschnitte. Letzterer läßt eine große Anzahl ca. haselnuß- bis walnußgroßer Höhlen mit eiterig-schleimigem, gelbgrauem Inhalte und buchtiger und nischiger, von Balken durchzogener Wandung hervortreten. Diese Höhlen sind durch derbes, schwieriges Bindegewebe, welches in seiner Anordnung den interlobulären Bindegewebszügen entspricht, getrennt. In der Tiefe des Knotens ist durch Konfluenz mehrerer solcher Höhlen eine über kleinkindskopfgröße Kaverne entstanden, die durch Reste von Septen und Balken noch deutlich den Gang ihrer Entstehung dokumentiert. In letzterer Höhle sind in dem schleimig-eiterigen Inhalte noch gelblich-kalkige Partikelchen enthalten (lobulär-käsige Pneumonie mit Erweichung).

Im Ausstrichpräparate sind ziemlich große Kokken, vereinzelte ovoide Bakterien, die häufig in der Mitte einen hellen Punkt erkennen lassen, und einzelne dicke Stäbchen nachweisbar. In Plattenkulturen wuchsen 5 Kolonien, die sich als Staphylokokken erwiesen, von ihnen zeigten 3 eine goldgelbe und 2 eine schwachgelbe Farbe.

Fall 9.

Kuh, 5 Jahre alt, in gutem Ernährungszustande. Bronchial- und Mediastinaldrüsen sind stark vergrößert, faustgroß und fühlen sich etwas fluktuierend an. Auf dem Einschnitte entleert sich eine käsige, schleimig-eiterige, graugelbe, geruchlose Masse, dazwischen findet sich ein mehr verkalkter, bröckeliger Inhalt, Umgeben ist die ganze ehemalige Drüsensubstanz von einer starken, derben und bindegewebigen Kapsel.

Mikroskopisch sind sowohl in dem erweichten Inhalte der Bronchial- wie Mediastinaldrüsen vereinzelte Kokken und nach Ziehl-Gabbetscher Färbung auch einzelne Tuberkelbacillen nachweisbar. In den aus diesem Inhalte angelegten Platten wuchsen zahlreiche, zum Teil ineinander übergehende, zum Teil isolierte, weiße Staphylokokkenkolonien.

Fall 10.

Tuberkulose der Bronchial- und Mediastinaldrüsen, der Portaldrüsen (Leber) und Gekrödrüsen bei einer 7 Jahre alten, gut genährten Kuh. Die Lunge selbst, hauptsächlich die Spitzen, sind mit zahlreichen hirsekorn- bis haselnußgroßen Knötchen besetzt, die mit einer rahmartigen, weißgelben, schwach fadenziehenden, geruchlosen Masse angefüllt sind. Daneben finden sich noch viele mit kalkigem, mörtelartigem, graugelbem Inhalte.

In den aus diesem rahmartigen Inhalte angefertigten mikroskopischen Ausstrichpräparaten waren vereinzelte Kokken nachzuweisen. Auf Agarplatten wuchsen 6 runde, weiße, lackartige Staphylokokkenkolonien.

(Forts. folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber Sporenbildung bei Milzbrand und anderen sporenbildenden Bakterien.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Bonn.]

Von Dr. Selter, Assistent.

Schon der Entdecker der Milzbrandsporen, R. Koch (1), stellte für die Bildung derselben folgende 3 Bedingungen auf:

- 1) geeignete Nährböden,
- 2) eine gewisse Temperaturhöhe,
- 3) ungehinderte Zufuhr von Luft.

Diese Bedingungen wurden in den folgenden Jahren noch genauer erforscht.

Buchner sprach 1880 die Ansicht aus, daß die physiologische Ursache der Sporenbildung in dem eintretenden Mangel an Ernährungsmaterial liege. Hiergegen wandten sich Lehmann (2) und Osborne (3), indem sie behaupteten, daß die Sporenbildung nicht allein in dem eintretenden Ernährungsmangel, sondern auch in der Anhäufung von Stoffwechselprodukten und einer gewissen Erschöpfung des Nährbodens ihre Ursache fände. Buchner (4) verteidigte dann Lehmann gegenüber die Richtigkeit seiner Behauptung; er zeigte, daß, wenn man die Nährlösung rechtzeitig erneuert, keine Sporenbildung eintritt. Wird dies aber einmal versäumt, so tritt bei sonst günstigen Bedingungen, Temperatur, genügendem Wassergehalt und Sauerstoffzutritt, Sporenbildung ein.

Um die Frage zu entscheiden, ob der eintretende Ernährungsmangel oder Anhäufung von Zersetzungsstoffen die Ursache der Sporenbildung sei, brachte Buchner in eine Uhrschale einen Tropfen destilliertes Wasser, in eine andere einen Tropfen einer ausgefaulten Fleischflüssigkeit, die zur Hälfte mit Wasser verdünnt und ausgekocht war. Beide Schälchen impfte er mit sporenfreien Milzbrandbacillen und kultivierte sie bei 37°. Nach einiger Zeit waren im destillierten Wasser nur Sporen, in der Faulflüssigkeit nur lange Fäden ohne Sporen nachzuweisen, woraus er schließt, daß das destillierte Wasser fördernd für die Sporenbildung, ein Einfluß der Zersetzungsstoffe aber nicht zu erkennen ist. Buchner fand auch, daß die bestgenährten Milzbrandstäbchen die reichlichsten Sporen bilden; bei schwach saurerer Reaktion treten Involutionsformen, aber keine Sporen auf. Zusatz von 2 Proz. Kochsalz soll die Sporenbildung beschleunigen. Schreiber (5) bestätigt die Ansicht Buchners, daß die Sporenbildung der Ausdruck plötzlicher Wachstums- hemmung unter sonst günstigen äußeren Bedingungen sei, indem er nachwies, daß in destilliertem Wasser und in 2-proz. Kochsalzlösung die Sporenbildung um 18—20 Stunden beschleunigt wird. Nach Schreiber sollen alle Momente, welche das Wachstum hemmen, die Sporenbildung befördern. Bei Prüfung von verschiedenen Nährlösungen fand er, daß Pepton selbst in höheren Konzentrationen gut vertragen wurde und scheinbar keinen schädigenden Einfluß ausübe, sondern nur die Vegetation begünstige. Zusatz von 0,5 Proz. Kalium phosphoricum und 0,1 Proz. Magnesium sulfuricum fördere die Sporenbildung. 1 bis 3 Proz. Traubenzucker sollen ohne Einfluß sein, 5 Proz. aber und noch mehr 10 Proz. Involutionsformen der verschiedensten Gestalt und Plasmolyse hervorrufen. Ebenso sollen 3 Proz. Glycerin die Sporen-

bildung günstig beeinflussen, wenn dieselbe auch 18—20 Stunden später eintrete, wie in destilliertem Wasser und Kochsalzlösung. In 1-proz. Glycerinlösungen beobachtete Schreiber nach 56 Stunden, in 5-proz. nach 64 Stunden Sporenbildung; in 10-proz. Lösungen war bei Milzbrand keine Sporenbildung mehr nachzuweisen, wohl aber bei Heubacillen; bei letzteren war zwischen 1,5 und 10 Proz. kaum ein Unterschied. Bei Prüfung der Reaktion fand er, daß der Zusatz von 3 Proz. Natrium carbonicum noch Sporenbildung, der von 0,5 Proz. Acidum tartaricum solche nicht zulasse. Auch Matzuschita (8) meint in einer neueren Arbeit über die Sporenbildung der Anaëroben, daß, so lange der Nährboden viele Nahrung enthalte, keine Sporenbildung eintrete, daß die Stoffwechselprodukte auf die Sporenbildung einen sehr zweifelhaften Einfluß ausüben, und daß die Veranlassung der Sporenbildung im Mangel an Nahrung liege.

Die weitere Bedingung, ungehinderte Sauerstoffzufuhr, ist in den letzten Jahren mehrfach bestritten worden.

Weil (6) behauptete zuerst, daß zur Sporenbildung bei Milzbrand Sauerstoff nicht nötig sei, sondern daß auch unter vollkommen anaëroben Verhältnissen Sporen gebildet würden, aber nur auf besonderen Nährsubstraten. Als solche nennt er festes Schafblutserum mit 25 Proz. Traubenzuckerbouillon, sterile Kartoffelscheiben, 10 Proz. Weizenauszug, 5 Proz. Quitten- und Eibischschleim. Diese Nährböden hatte er geprüft, weil Migula (7) in ihnen Sporen auch bei solchen Bakterien gefunden haben wollte, die sonst keine bilden, so die Bakterien der blauen Milch.

Klett (9) fand bei Nachprüfung der Weilschen Arbeit, daß Sporenbildung bei Milzbrand in einer reinen Wasserstoffatmosphäre auf festen und flüssigen Nährböden ausblieb, während in den Buchnerschen Röhrchen, in denen der Sauerstoff durch Pyrogallussäure unter Zusatz von Kalilauge resorbiert wird — also in einer reinen Stickstoffatmosphäre —, stets Sporenbildung eintrat. Klett schließt hieraus, daß der Wasserstoff das Wachstum der Bakterien schädige, daß aber die Sporenbildung des Milzbrandbacillus nicht an das Vorhandensein des Sauerstoffs gebunden sei, da Milzbrandbacillen in einer reinen Stickstoffatmosphäre reichlich Sporen bilden könnten. Demgegenüber wies aber Weil (10) in einer Erwiderung auf die Klettsche Arbeit darauf hin, daß Buchnersche Röhren zur Ausführung von Versuchen über Sporenbildung der Milzbrandbacillen bei Anaërobie nicht geeignet seien. Ebenso kam Jacobitz (11) bei Nachprüfung der Klettschen Angaben zu dem Resultat, daß der Milzbrandbacillus in reiner Stickstoffatmosphäre bei strenger Anaërobie keine Sporen bilde.

Slupsky (12) stellte auch durch seine Untersuchungen fest, daß unter streng anaëroben Verhältnissen beim Milzbrandbacillus keine Sporenbildung eintritt, und daß das Wachstum der Bacillen schon bei Sauerstoffmangel ein sehr kümmerliches ist. In einer neueren Arbeit hält Weil (13) den Standpunkt aufrecht, daß Milzbrandbacillen unter anaëroben Verhältnissen Sporen bilden können, aber nur auf Quittenschleim, Eibischauszug und ähnlichen Medien. Diese scheinen nach ihm Stoffe zu enthalten, die den Sauerstoff gleichsam ersetzen.

In der folgenden Arbeit habe ich auf Veranlassung und unter Leitung des Herrn Prof. Kruse versucht, den Einfluß verschiedener Nährmedien auf die Sporenbildung der Milzbrandbacillen und anderer sporenbildenden Bakterien genauer klarzulegen, unter gleichzeitiger Berücksichtigung der

anderen Momente, die für das Zustandekommen der Sporenbildung in Frage kommen. Anlaß dazu gab die Beobachtung, daß die Sporenbildung bei Milzbrand auf den im Laboratorium gebräuchlichen Nährböden sehr unregelmäßig erfolgte, und daß sie unter scheinbar gleichen Verhältnissen das eine Mal schnell, das andere Mal langsam und schlecht oder garnicht eintrat.

Zur Verfügung standen mir im Beginn meiner Arbeiten drei Laboratoriumskulturen, die verschieden lange auf Gelatine weiter gezüchtet waren. Der eine Stamm war allmählich asporogen geworden. Auf keinen Nährmedien, selbst nicht in 0,8-proz. NaCl-Lösung, war eine Sporenbildung zu erzielen. Auch durch Tierpassage war es nicht möglich, den Stamm wieder zu einem Sporenbildner zu machen, so daß derselbe für meine Versuche ausscheiden mußte.

Die anderen Laboratoriumskulturen, als A und B bezeichnet, sporifizierten auch nicht gleichmäßig gut. A war der ältere Stamm und bildete schlechte Sporen wie B, so daß ich für die späteren Versuche nur B verwandte. Hierzu kam im Laufe meiner Untersuchungen noch ein neuer Stamm, C, der aus einer frisch an Milzbrand eingegangenen Kuh gezüchtet war.

A. Sporenbildung in flüssigen Nährmedien.

Bei den ersten Versuchen mit flüssigen Nährmedien ging ich von frischen Gelatinekulturen aus, später bei den festen Nährsubstraten von frischen Kulturen auf einfachem Nähragar, die von an Papierschnitzel angetrockneten Sporen jedesmal frisch bereitet waren. Durch Kontrolle überzeugte ich mich, daß das Impfmateriel keine Sporen enthielt.

Die Sporenbildung stellte ich für gewöhnlich durch Beobachtung lebenden Materials im hängenden Tropfen fest, da diese Methode am sichersten ist und bei einiger Uebung kaum eine Täuschung vorkommen kann. Allerdings können für den Ungeübten Körnchen und Fetttropfchen, die bei den Zellen, die keine Sporen bilden, und bei Degenerationsformen regelmäßig angetroffen werden, Sporen vortäuschen. Matzuschita (8) meint zwar, daß gerade durch die Beobachtung im hängenden Tropfen öfters Fehler vorgekommen seien, weil manche Bakterien granulierten, körnigen Inhalt besäßen, der Sporen vortäuschen könnte. Meines Erachtens kann aber diese Täuschung noch viel leichter bei Beobachtung im gefärbten Präparat vorkommen, da die Fetttropfchen bei den gebräuchlichen Sporenfärbungsverfahren sich ebenso wie die Sporen färben. In allen irgendwie zweifelhaften Fällen brachte ich das Material in flüssigem Agar von 80° C und ließ es 10 Minuten darin, um dann den Agar zur Platte auszugießen. Als Sporenfärbungsverfahren, das ich jedoch, wie schon betont, nie zur Feststellung der Sporenbildung benutzte, fand ich am besten folgendes: Nach dem Trocknen und Fixieren 2 Minuten mit konzentriertem Karbolfuchsin (Ziehl) über der Flamme färben, 10 bis 20 Sekunden in 2-proz. Schwefelsäure entfärben, kurzes Nachfärben mit Methylblau.

I. Von 24-stünd. Gelatinekulturen der Stämme A und B wird reichlich Material in gewöhnlicher Fleischextraktbouillon aufgeschwemmt und von hier in die verschiedenen Nährflüssigkeiten gebracht und zwar in hängenden Tropfen, die in den Brutschrank bei 35° C gestellt wurden. Diese Temperatur (34—37°) hatte sich mir für die Sporenbildung am geeignetsten erwiesen.

Die hängenden Tropfen wurden vor dem Einstellen in den Brutschrank und später zu gewissen Zeiten untersucht.

Es zeigten sich in:

- 1) 1-proz. Peptonwasser¹⁾ erst nach 48 Stunden²⁾ nur ganz vereinzelte Sporen;
- 2) 5-proz. Peptonwasser¹⁾ nach 30 Stunden vereinzelte Sporen;
- 3) 10-proz. Peptonwasser mit Zusatz von 1 Proz. Natriumphosphat und 0,5 Proz. Magnesiumsulfat nach 48 Stunden in vielen Fäden Sporenbildung;
- 4) 1-proz. Pepton-Kochsalzlösung nach 24 Stunden vereinzelte Sporenbildung;
- 5) 5-proz. Pepton-Kochsalzlösung nach 24 Stunden vereinzelte Sporenbildung;
- 6) 10-proz. Pepton-Kochsalzlösung nach 24 Stunden vereinzelte Sporenbildung;
- 7) Bouillon nach 24 Stunden in den meisten Fäden deutliche Sporenbildung, nach 48 Stunden fast nur freie Sporen;
- 8) Bouillon + 5 Proz. Pepton nach 24 Stunden in vielen Fäden Sporenbildung;
- 9) Bouillon + 5 Proz. Glycerin nach 24 Stunden nur ganz vereinzelte Sporen;
- 10) Bouillon + 2 Proz. Traubenzucker keine Sporenbildung;
- 11) Bouillon + 2 Proz. Milchzucker nach 20 Stunden überall schöne Sporenbildung, nach 48 Stunden fast nur freie Sporen;
- 12) eiweißfreier Nährlösung nach Uschinsky, C. Fränkel nach 24 Stunden in den Fäden zum Teil Sporenbildung.

Die Sporenbildung trat zuerst an der unteren Fläche des hängenden Tropfens ein, wo am meisten Sauerstoff war, und in den Nährmedien, wo nur vereinzelt Sporen gebildet waren, befanden sich diese immer an der unteren dem Luftraum zugewandten Fläche.

Wir sehen aus dem obigen Versuch, daß, mit Ausnahme von Milchezucker, Zusätze zur Bouillon keinen günstigen Einfluß auf die Sporenbildung haben, ja im Gegenteil Glycerin und Traubenzucker die Sporenbildung beeinträchtigen, wenn nicht ganz aufheben. Ebenso scheint Pepton die Sporenbildung zu hindern. In den hängenden Tropfen, wo keine Sporenbildung eintrat, wurden in den Fäden schon nach 24 Stunden, deutlicher nach 48, kleine Körnchen gebildet. Die Bacillen bekamen ein granuliertes Aussehen und zerfielen nach einigen Tagen vollständig, so daß man nur noch einen Haufen von kleinen Körnchen sah. Uebertragung dieser Körnchen auf Agar zeigte, daß alles abgestorben war.

II. Bei einem zweiten Versuch impfte ich Stamm C von einer 18-stünd. Agarkultur, die kurz vor der Sporenbildung stand, in reichlichen Mengen in verschiedene Bouillonnährböden und in Wasser und legte genau wie oben hängende Tropfen an, die bei 35° kultiviert wurden. Hier zeigte sich bei:

- 1) Bouillon nach 18 Stunden in den meisten Fäden schöne Sporenbildung, nach 48 Stunden nur freie Sporen;
- 2) Bouillon + 5 Proz. Glycerin keine Sporenbildung;
- 3) Bouillon + 2 Proz. Milchzucker nach 18 Stunden fast überall schöne Sporenbildung, nach 48 Stunden nur freie Sporen;

1) Ohne Zusatz von Kochsalz.

2) Wo keine weitere Zeit angegeben ist, trat ein Fortschreiten der Sporenbildung nicht ein.

4) Bouillon + 2 Proz. Traubenzucker nach 18 Stunden ganz vereinzelt Sporenbildung, nach 48 Stunden nicht fortgeschritten;

5) destilliertem Wasser nach 18 Stunden in vielen Fäden Sporenbildung, die anderen Fäden granuliert; nach 48 Stunden freie Sporen, die meisten Fäden körnig zerfallen;

6) Leitungswasser nach 18 Stunden fast überall schöne Sporenbildung, nach 48 Stunden meist freie Sporen;

7) 0,8-proz. Kochsalzlösung nach 18 Stunden überall sehr schöne Sporenbildung, nach 48 Stunden nur freie Sporen.

Auch in diesem Versuch sehen wir wieder, daß Zusatz von Glycerin und Traubenzucker zur Bouillon die Sporenbildung hindert. In allen 4 Bouillonarten trat eine kräftige Vermehrung der Milzbrandbacillen ein; doch war schon bald eine Verschiedenheit in dem Aussehen der einzelnen Fäden zu beobachten. Bei Glycerin- und Traubenzuckerbouillon waren die meisten Fäden schmaler als normal, und wie in gewöhnlicher und Milchzuckerbouillon; auch zeigten die Fäden, in denen keine Sporen gebildet wurden, schon bald die Granulierung, wie ich sie oben beschrieben habe. In destilliertem Wasser trat die Sporenbildung nicht so schön ein, wie in Leitungswasser und physiologischer Kochsalzlösung. Die Sporenbildung war in der 0,8-proz. Kochsalzlösung und im Leitungswasser am meisten vorgeschritten; es kann demnach die Sporenbildung nur in dem eintretenden Mangel an Ernährungsmaterial ihre Ursache haben.

III. Beim dritten Versuch impfte ich Reagenzröhrchen, die mit je 3 ccm Bouillon, 5-proz. Glycerinbouillon, 2-proz. Milchzuckerbouillon und 2-proz. Traubenzuckerbouillon gefüllt waren, mit den Stämmen B und C von 18-stünd. Agarplatten in reichlichen Mengen.

Der Stamm B hatte nach 5 Tagen nur in gewöhnlicher Bouillon vereinzelt Sporen gebildet.

Stamm C hatte in Bouillon und Milchzuckerbouillon ziemlich gut Sporen gebildet, in Glycerin- und Traubenzuckerbouillon nur ganz vereinzelt. Etwas besser wurde das Resultat, wenn man die Röhrchen schräg neigte, so daß die Oberfläche der Bouillon größer wurde, und die Röhrchen öfter schüttelte. Doch trat nur bei Bouillon und Milchzuckerbouillon eine bessere Sporenbildung ein. Der Grund für die schlechte Sporenbildung beruht wohl nur auf der mangelhaften Sauerstoffzufuhr, da die Milzbrandfäden in der Bouillon schnell zu Boden sinken und so doch von der Luft ziemlich abgeschlossen sind. Denn wenn man eine Agarplatte, auf der noch keine Sporen gebildet sind, mit Bouillon übergießt, so daß die Platte nur mit einer dünnen flüssigen Schicht bedeckt ist und die Milzbrandbacillen in der Bouillon verteilt, ist nach 24 Stunden üppiges Wachstum und schöne Sporenbildung zu bemerken.

Durch die bisherigen Versuche war bewiesen, daß Glycerin und Traubenzucker, in den angewandten Konzentrationen, einen schädigenden Einfluß auf die Sporenbildung bei Milzbrand ausüben. Um eine Erklärung hierfür zu bekommen, untersuchte ich zunächst die Reaktion der Bouillon mit den verschiedenen Zusätzen, die ich 6 Tage vorher mit sporenfreiem Milzbrand geimpft hatte. Auf je 3 ccm Nährflüssigkeit wurden an $\frac{1}{10}$ -Normalnatronlauge gebraucht:

- 1) bei gewöhnlicher Bouillon 18 Tropfen,
- 2) bei 5-proz. Glycerinbouillon 23 Tropfen,
- 3) bei 2-proz. Milchzuckerbouillon 18 Tropfen,
- 4) bei 2-proz. Traubenzuckerbouillon 28 Tropfen.

Es war also in Glycerin- und Traubenzuckerbouillon eine stärkere Säurebildung eingetreten. Es ist möglich, daß dies störend auf die Sporenbildung eingewirkt hat, doch wird das insbesondere beim Glycerin wohl nicht der allein maßgebende Faktor sein. Man muß immer daran denken, daß Glycerin eine gewisse antiseptische Kraft besitzt. Nach Rosenau (14) beschränkt Glycerin in 35-proz. Verdünnung das Wachstum der meisten Bakterien. Ebenso fand Galtier (15), daß Milzbrandbacillen in reinem Glycerin rasch ihre Virulenz verlieren. Schreibers (5) Beobachtungen haben wir schon oben erwähnt. Man muß allerdings zugeben, daß das vegetative Wachstum der Milzbrandbacillen in 5-proz. Glycerinbouillon ein gutes ist und anscheinend hinter dem der anderen Nährböden nicht zurücksteht. Dennoch kann man sich vorstellen, daß das Glycerin schon in diesen Konzentrationen auf andere Funktionen, wie z. B. auf die Sporenbildung, schädigend einwirkt, und zwar als solches, nicht nur durch seine Zersetzungsprodukte. Bongert (16) hebt in einer neueren Arbeit die große Empfindlichkeit der Milzbrandbacillen chemischen und thermischen Reizen gegenüber hervor. Nach ihm können schon 0,1-proz. Karbolsäurelösung, sowie destilliertes und gewöhnliches Leitungswasser die oben beschriebene Körnchenbildung, sowie Plasmolyse hervorrufen und die Milzbrandbacillen auflösen. Wie empfindlich die Milzbrandbacillen sind, zeigt folgendes: Ich versuchte im hängenden Tropfen unter dem Mikroskop, welches in einen heizbaren Schrank eingestellt war, die Sporenbildung zu beobachten, worauf ich unten noch einmal zurückkommen werde. Hierbei zeigte es sich, daß, wenn ich den Spiegel des Mikroskops auf die Lampe eingestellt ließ, so daß das Licht der Lampe (Auerlicht) beständig durch den hängenden Tropfen fiel, keine Sporenbildung, sondern bald Körnchenbildung eintrat, während in dem Kontrollpräparat, welches im Brutschrank aufbewahrt wurde, schöne Sporenbildung eintrat. Erst als ich bei einem neuen Versuch das Fenster des heizbaren Schrankes mit einem schwarzen Tuch verschloß, kam es zur Sporenbildung.

IV. In dem nächsten Versuch untersuchte ich den Einfluß verschiedener Blutsera auf die Sporenbildung der Milzbrandbacillen.

Behring (17) findet im unverdünnten Blutserum keine Sporenbildung und nimmt an, daß es die Kohlensäure sei, welche im Blutserum die Sporenbildung verhindere, nachdem C. Fränkel die entwicklungshemmende Wirkung der Kohlensäure gegenüber Milzbrand festgestellt hatte. In stark verdünntem Blutserum (1 Teil Serum auf 40 Teile destilliertes Wasser) fand er dagegen schnelle und reichliche Sporenbildung. Nach Bongert (16) tritt auch in flüssigen Blutserumkulturen Sporenbildung ein, wenn ungehinderter Luftzutritt vorhanden ist. Nach ihm ist nicht der Kohlensäuregehalt des Serums, wie Behring glaubt, die hindernde Ursache für das Fehlen der Sporenbildung, sondern das Züchten im Reagenzglase bei hoher Schicht, also Verhinderung des Sauerstoffzutritts.

Ich verwandte bei meinem Versuch Ascitesserum, Pferdeserum und Hammelserum in verdünntem und unverdünntem Zustande und legte wie oben Kulturen im hängenden Tropfen an. Die Verdünnungen wurden mit 0,8-proz. Kochsalzlösung hergestellt. Als Kontrolle wurde ein hängender Tropfen von Kochsalzlösung angelegt.

1) Kochsalzlösung: nach 18 Stunden sehr schöne Sporenbildung, nach 42 Stunden nur freie Sporen.

2) Ascitesserum unverdünnt: keine Sporenbildung.

3) Ascitesserum 1 Teil Serum + 1 Teil NaCl-Lösung: keine Sporenbildung.

4) Pferdeserum verdünnt: keine Sporenbildung.

5) Pferdeserum verdünnt (1 + 1 NaCl-Lösung): keine Sporenbildung.

6) Pferdeserum verdünnt (1 + 9 NaCl-Lösung): keine Sporenbildung.

7) Hammelserum unverdünnt: nach 18 Stunden in einzelnen Fäden deutliche Sporenbildung, die nicht weiter fortschreitet.

8) Hammelserum verdünnt (1 + 1 NaCl-Lösung): nach 18 Stunden überall deutliche Sporenbildung, nach 42 Stunden meist freie Sporen.

9) Hammelserum verdünnt (1 + 9 NaCl-Lösung): nach 18 Stunden überall deutliche Sporenbildung, viele freie Sporen, nach 42 Stunden meist freie Sporen.

Wir sehen, daß auch in unverdünntem Serum Sporenbildung eintreten kann, allerdings ergiebiger in verdünntem Serum, wobei man aber gar nicht so starke Verdünnungen wie Behring zu nehmen braucht. Das Nichteintreten der Sporenbildung kann deshalb wohl kaum auf dem Kohlensäuregehalt des Serums beruhen. Es scheinen mehr spezifische Kräfte der verschiedenen Sera zu sein, die die Sporenbildung beim Milzbrandbacillus verhindern.

B. Sporenbildung auf festen Nährböden.

Die nun folgenden Versuche stellte ich auf festen Nährböden an und zwar mit gewöhnlichen Agarnährböden ohne Zusatz, und solchen mit 5 Proz. Glycerin, 2 Proz. Milchzucker und 2 Proz. Traubenzuckerzusatz.

Das Impfmateriel wurde von jungen Agarkulturen genommen, die jedesmal von an Fließpapier angetrockneten Milzbrandsporen hergestellt wurden. Zur Verwendung kamen nur noch Stamm B und C, da von A nicht mehr reichlich Sporen zu erzielen waren.

Die Kulturen auf schräg geneigten Agarröhrchen zeigten ein nicht immer gleiches Verhalten, indem auf Glycerinagar und Traubenzuckeragar einmal Sporen gebildet wurden, das andere Mal wieder nicht. So viel war aber auch aus diesen Versuchen zu sehen, daß Glycerin- und Traubenzuckeragar zur Erreichung der Sporenbildung ein schlechter Nährboden ist; am geeignetsten ist gewöhnlicher Agar und dann Milchzuckeragar. Auch auf Glycerinagar waren die Milzbrandfäden schmäler wie auf gewöhnlichem und Milchzuckeragar, während die Kulturen auf Traubenzuckeragar mehr zu Degenerationsformen neigten. Auf Agarplatten wurden reichlicher Sporen gebildet, da hier ja auch die Bedingungen wegen der größeren Luftzufuhr noch besser sind, wie auf schräg geneigten Reagenzröhrchen.

Um den Einfluß der weiteren Züchtung auf denselben Nährböden auf die Sporenbildung eines Stammes zu erforschen, impfte ich eine Kultur von gewöhnlichem Agar auf die verschiedenen Nährböden und dann von den einzelnen Nährböden jeden Tag weiter. Ich untersuchte jedesmal nach 24 Stunden und nach 2—3 und 8 Tagen, ob Sporenbildung eingetreten war. Zur Verwendung kamen hierbei Stamm B und C, die beide gleichmäßig gut Sporen bildeten.

I. Stamm B auf Platte von gewöhnlichem Agar ausgestrichen, dann jeden Tag bis zur 13. Generation von der vorherigen Kultur auf weitere Platten ausgestrichen:

Bis zur 13. Generation schöne Sporenbildung.

Stamm C auf Agarröhrchen und weiter wie oben auf Agarröhrchen übergeimpft bis zur 16. Generation:

Bis zur 14. Generation noch ziemlich gute Sporenbildung, von da an sind nur noch vereinzelt Sporen zu finden.

Beim Ueberimpfen auf schräge Agarröhrchen trat in den späteren Generationen eine schlechtere Sporenbildung ein, als bei der entsprechenden auf Platten. Dies hat wahrscheinlich seinen Grund in der mangelhaften Lüftung der Röhrchenkulturen. Daneben kommen aber vielleicht noch gewisse schädigende Bestandteile der Bouillon selbst in Frage. Daß unsere künstlichen Nährböden auf die Dauer degenerierend auf viele Bakterien wirken, ist ja eine alte Erfahrung, die sich besonders in dem Virulenzverlust ausspricht. Empfindliche Mikroorganismen reagieren sehr schnell in dieser Weise. Entschieden gehören die Milzbrandbacillen zu ihnen, solange sie noch keine Sporen gebildet haben.

II. Stamm B auf Platte von Glycerinagar und weiter auf Platten verimpft bis zur 13. Generation:

Bis zur 7. Generation Sporenbildung, von der 5. an nur ganz vereinzelt.

Stamm C auf Glycerinagarröhrchen verimpft bis zur 16. Generation: Bis zur 3. Generation Sporenbildung.

Die 6. und 8. Generation wurden auf Agar-, Milchzuckeragar- und Traubenzuckeragarplatten übertragen, ohne daß es ermöglicht war, eine Sporenbildung zu erzielen.

Mit der 9. Generation wurde eine Maus geimpft, die prompt einging. Das bakterienhaltige Blut wurde auf die verschiedenen Nährböden übertragen, eine Sporenbildung jedoch nicht erreicht. Eine nochmalige Passage dieser Bacillen durch eine Maus hatte dasselbe Resultat.

Es war somit Stamm C, doch ein junger, gut sporenbildender Stamm, auf Glycerinagarröhrchen schon nach 3maligem Ueberimpfen in einen asporogenen umgewandelt worden.

Spätere Untersuchungen mit 1—3 Proz. und 5 Proz. Glycerinzusatz zum Agar zeigten, daß ein schädigender Einfluß des Glycerins schon bei 3 Proz. zu bemerken ist, jedoch nicht so stark ist wie bei 5 Proz. Bei 1 Proz. konnte keine deutliche Einwirkung auf die Sporenbildung beobachtet werden.

III. Stamm B auf Milchzuckeragarplatten weiter verimpft bis zur 13. Generation:

Bis zur 13. Generation schöne Sporenbildung nach 27 Stunden.

Stamm C auf Milchzuckeragarröhrchen verimpft bis zur 16. Generation:

Bis zur 7. Generation schöne Sporenbildung, von da nur ganz vereinzelt; von der 9. an keine Sporenbildung mehr.

Ueberimpfen der 13. Generation auf andere Nährböden, sowie in Wasser und 0,8-proz. Kochsalzlösung erwiesen sie als asporogen.

IV. Stamm B auf Traubenzuckeragarplatten verimpft bis zur 13. Generation:

Bis zur 13. Generation Sporenbildung, von der 11. an sehr schlecht.

Stamm C auf Traubenzuckeragarröhrchen verimpft bis zur 16. Generation:

Bis zur 10. Generation ziemlich reichlich Sporen, von da an nur ganz vereinzelt, jedoch bis zur 16. nachzuweisen. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Entgegnung auf einige Bemerkungen von Dr. A. Grimme und Dr. V. Růžicka, meinen Artikel „Ueber die feine Struktur des Milzbrandbacillus“ betreffend.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Siena.
Prof. A. Schlavo.]

Von Dr. D. Ottolenghi.

In einem Artikel, in welchem er die neuesten Publikationen über die Morphologie des Milzbrandbacillus bespricht, läßt sich Dr. A. Grimme¹⁾, nachdem er darauf hingewiesen, daß durch A. Meyers und seine eigenen Arbeiten nunmehr festgestellt ist, daß im Bakterienkörper sich oft Fetttröpfchen finden, die bei den nicht gefärbten Keimen als stark lichtbrechende Körnchen erscheinen, wie folgt aus: „es muß deshalb sehr befremden, wenn Ottolenghi die längst bekannte Fettnatur solcher Zelleneinschlüsse nicht kennt“. Ich erlaube mir nun Herrn Dr. Grimme zu bemerken, daß ich zu dieser Rüge keinen Anlaß gegeben zu haben glaube, denn 1) hatte meine Mitteilung nur den Zweck, einige Resultate bekannt zu geben, die man durch die vitale Färbung des Milzbrandbacillus mit Neutralrot erhält, Resultate, die nach meiner Ansicht verschieden sind von denjenigen, die andere Forscher mittels anderer Methoden erhalten haben, Dr. Růžickas Resultate²⁾ zum Teil ausgenommen; 2) die Gebilde, die nach Dr. Grimme Fetttröpfchen sind, erwähnte ich nur ganz kurz, hervorhebend, daß sie sich nicht mit Neutralrot färben und als von den mit Neutralrot färbbaren Körnchen, Schollen und Fäden verschiedenartige Bakterienbestandteile angesehen werden müssen. Wenn ich nicht hinzufügte, daß diese lichtbrechenden Körperchen, die für meine Untersuchungen eine sehr sekundäre Bedeutung hatten, aus Fett bestehen, so geschah dies durchaus nicht, weil ich von Dr. Grimmes bedeutender Arbeit³⁾ keine Kenntnis hatte, sondern weil Dietrich und Liebermeister⁴⁾, die sich nach ihm mit eben diesen besonderen Gebilden beim Milzbrandbacillus angelegentlich befaßt hatten, auf Grund vieler Versuche bestimmt erklärt hatten, daß sie nicht aus Fett bestehen können, und es mir deshalb — da ich über eigene Beobachtungen und Beweisgründe nicht verfügte — nicht erlaubt war, mich in eine Diskussion darüber einzulassen und der Behauptung dieser letztgenannten Forscher, die von Dr. Grimmes Untersuchungen doch offenbar genaue Kenntnis hatten, zu widersprechen.

Was die Bemerkung Dr. Růžickas⁵⁾ anbetrifft, der, mit Bezug auf die Schlußanmerkung zu meiner Mitteilung sagt, daß es sich hier nicht um eine Bestätigung meiner Beobachtungen von seiner Seite handle, sondern daß vielmehr in meiner Arbeit eine Bestätigung der seinigen zu sehen sei, so muß ich erklären, daß ich in jener Anmerkung durchaus nicht die Frage der Priorität aufwerfen, sondern nur einfach

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. p. 352.

2) Arch. f. Hygiene. Bd. XLVI. 1903.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXII. 1902. p. 1 u. folg.

4) Ebenda. p. 858.

5) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. p. 354.

die gewiß bedeutende Tatsache hervorheben wollte, daß er und ich, obgleich nach verschiedenen Methoden und offenbar unabhängig von einander arbeitend, im Körper des Milzbrandbacillus völlig übereinstimmende Strukturbesonderheiten erkannt hatten.

Nachdruck verboten.

Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires).

[2. Mémoire.]

La maladie vaccinale et son parasite (*Plasmodium vaccinae*).

Par F. J. Bosc, Professeur à l'université de Montpellier.

Avec 2 planches.

(Schluß.)

Dans les cellules, l'inclusion apparaît toujours comme un corps parfaitement distinct du protoplasma cellulaire; elle présente des bords précis et est entourée par une zone hyaline parfois peu visible.

Mais la lymphé ou la pulpe fraîches étudiées ainsi directement ne permettent pas des réactions colorantes suffisamment précises. Aussi cette étude doit elle être complétée par celle de raclages rapidement états et fixés à l'état frais, et sans dessiccation dans le Flemming fort, puis colorés par le picro-indigo-carmin. Les inclusions intracellulaires sont ainsi admirablement fixées et l'on peut étudier toutes les formes que nous avons décrites dans les coupes de pustule et qui sont représentées dans les cellules isolées de la planche I. Ces préparations montrent que la structure précise de ces inclusions bien fixées corrobore les observations que nous avons faites à l'état frais.

Mais avec les méthodes précédentes on n'arrive pas à mettre en évidence parfaité les petites formes parasitaires libres dans la lymphé. Nous nous sommes servis dans ce but de la méthode de Mann. Les étalements de lymphé avec dessiccation ne donnent que de mauvais résultats. Mais déjà la méthode de Mann utilisée pour l'étude du contenu des vésicules, sur les coupes de pustules, m'avait montré qu'il est possible de colorer en rouge très vif les inclusions intracellulaires les plus fines et de retrouver dans la lymphé, les granulations des masses plasmodiales. Les plus petits apparaissent comme un point rouge brillant libre ou enfermé dans un leucocyte; ceux qui ont de 1 à 3 μ sont plus difficiles à percevoir quand ils sont en liberté.

Devant ces résultats, nous avons recueilli par raclage de la lymphé vaccinale dont nous avons laissé tomber une goutte dans du sublimé acétifié: on monte dans la paraffine et l'on fait des coupes très minces qui sont colorées par la méthode de Mann: c'est le procédé de la goutte¹). Nous avons retrouvé sur les préparations bien réussies de fines granulations d'un rouge vif, des granulations rouges un peu plus volumineuses mais pâles et qui paraissent bien se rapporter aux corps verdâtres libres dans la lymphé.

Pour mieux étudier encore les inclusions et les modifications cellulaires capables de les simuler, nous avons coloré par la méthode de Mann de grosses gouttes provenant du curettage d'une pustule vaccinale de génisse. Dans les coupes de ces gouttes nous avons observé à côté de formes corpusculaires libres, des formes enfermées dans les cellules et nous avons pu rapporter à leur véritable origine: ce sont des formations de dégénérescence. Nous avons vu en effet dans le chapitre des lésions que les cellules peuvent subir, au voisinage de la vésicule une dégénérescence kératocolloïde qui les transforme en une petite masse réfringente de plus en plus réduite, ovulaire ou ronde ayant l'aspect d'une spore. L'on peut trouver plusieurs de ces corps dans une des cellules „végétales“, suivant processus que j'ai indiqué. Certaines de ces cellules au lieu de se réduire ainsi en plusieurs grains assez petits constituent une masse arrondie ou ovulaire, à contours précis, fortement colorée et renfermant 3 à 6 corps ronds de sorte que l'on pourrait croire à un kyste contenant des spores. On trouve un grand nombre de ces formes pseudokystiques colloïdales, de taille variable, dans la pulpe

1) La lecture du travail récent d'A. Foà (62) nous a fait constater que cet auteur a imaginé la même méthode de la goutte pour l'étude de la lymphé vaccinale.

de génisse, et les corps arrondis qu'elles renferment correspondent aux grains chromatiques de l'inclusion. Dans les grandes masses plasmodiales il autour existe du noyau vésiculeux une masse parsemée de grosses granulations qui se différencient plus ou moins avec le Mann suivant l'état avancé de la dégénération colloïdale, mais on suit tous les intermédiaires entre les inclusions à divisions nucléaires bien colorées des cellules vacuolées et les inclusions des cellules dégénérées mal colorées à cause d'une dégénérescence progressive. Dans les cellules vésiculeuses, les masses plasmodiales nucléées parasitaires se différencient bien par la méthode de Mann et on ne peut point faire de confusion entre elles et un kyste sporulé. De même, les cellules sébacées hypertrophiques simulent assez bien des kystes, dans la lymphe fraîche, mais elles sont faciles à différencier; elles peuvent renfermer dans leur intérieur un à deux corpuscules parasitaires bien colorés, de sorte que leur inoculation pourra être positive alors même que l'on procède à leur isolement de la façon indiquée par Funck (45).

Ainsi donc la lymphe vaccinale renferme des corpuscules qu'il est possible de fixer et de colorer, quoiqu'ils puissent être extrêmement fins, et dont on peut mettre en évidence la filiation avec les inclusions enfermées dans les cellules; nous n'avons trouvé ni spores, ni kystes vrais mais des formations pseudokystiques dues à la dégénérescence de cellules parasitées.

Il est important de faire ces examens de lymphe et de pulpe avant l'envahissement de la pustule par les leucocytes, car les fragments de leucocytes dégénérés rendent la recherche des inclusions difficile et l'apparition de l'immunité entraîne la disparition ou la fragilité plus grande des inclusions situées dans le liquide vésiculaire.

Cette conclusion a une importance pratique considérable, pour la clavelée, comme pour la vaccine: la pulpe vaccinale sera d'autant plus active, plus pure et de conservation plus facile qu'elle aura été produite par le broyage de pustules récoltées avant l'apparition de l'immunité et l'invasion leucocytaire totale, c'est à dire avant le 7^e jour.

En somme donc, les inclusions sont distribuées dans toute l'étendue du foyer cellulaire épithélial et conjonctif et il y a un rapport étroit entre le développement des inclusions et celui de la néoformation cellulaire, de même qu'il y a un rapport entre le stade de développement de l'inclusion et les lésions d'hypertrophie et de dégénérescence de la cellule. Les inclusions pullulent d'abord sous l'aspect de formes bactériennes extrêmement fines et très nombreuses dans les cellules du foyer à son début, au voisinage des inclusions d'origine; elles émigrent ensuite vers les cellules périphériques, au fur et à mesure que le foyer s'agrandit et en rayonnant, comme ce dernier; à partir de la 48 heure, les inclusions sont distribuées dans toutes les cellules du foyer de sorte que chaque cellule n'en contient plus qu'une seule qui y fera son développement. Ces inclusions — situées dans le protoplasma non dans le noyau — aboutissent à des formes de reproduction (par division nucléaire) qui se dissocient dans la cellule utriculisée puis pénètrent dans les cellules néoformées ou tombent dans le liquide de la vésicule.

Clarke a décrit de grosses formes libres dans les interstices cellulaires mais il devait s'agir de leucocytes; Salmon n'a jamais rencontré de formes libres ni entre les cellules, ni à cheval sur deux cellules; nos recherches nous ont montré que les formes les plus fines sont toujours intracellulaires, dans la pustule non ramollie. Il est cependant nécessaire que les formes fines passent dans les interstices cellulaires pour aller infecter les cellules jeunes; mais, comme Kourloff le fait remarquer, leur passage doit être extrêmement rapide.

Nous avons montré combien il était difficile de voir les formes minimales hors des cellules tandis que, dans les cellules, la capsule hyaline les met en relief; grâce cependant à la méthode de Mann, il est certain que les formes fines se retrouvent dans la lymphe vaccinale et correspondent aux corpuscules ambrés de la lymphe fraîche et aux formes de division des parasites intracellulaires. Ces formes très petites

des inclusions vaccinales existent dans la lymphe à l'état de liberté ou enfermées dans les leucocytes. Ce processus de phagocytose n'est actif qu'à partir du 6^e jour c'est à dire à partir du moment où apparaît l'immunité.

2. Forme, structure, évolution des inclusions; nature de la capsule hyaline.

A. Forme et structure. L'étude d'un grand nombre d'inclusions montre qu'elles peuvent être classées en séries qui aboutissent à des figures semblables aux formes de reproduction de certains êtres organisés. Nous les étudierons, pour éviter les redites, dans l'ordre où elles paraissent se développer :

a) Les formes d'apparence bactérienne ou corpuscules chromatiques (C. R. Soc. Biol. 17 oct. 1903) peuvent être tellement petites qu'elles constituent un point à peine visible avec les plus forts grossissements mais qui est rendu plus facile à percevoir par la zone hyaline qui l'entoure (voir dans les cellules *t* fig. 1; *po*, *co*, *b* fig. 2 et 3; *a*, *a*, *a* fig. 2 et 10, pl. I). Les formes sont isolées (cocci), ou réunies 2 à 2, en diplocoque minimal (cellules *t* fig. 1 et *po* fig. 23, pl. I); elles augmentent un peu de volume et prennent l'aspect de microcoques isolés encore difficiles à voir, (*b* fig. 10; *o*, *po* fig. 23; *s*, *s* fig. 1, pl. I), de diplocoques à grains ronds égaux (*r*, *r*, *r* fig. 1 et *di*, *di*, *di* fig. 23, pl. I) ou inégaux (*c* fig. 10, pl. I et fig. 23, pl. I) ou bien d'une courte chaînette à 3 ou 4 éléments (*h* fig. 23, pl. I). Ces corps atteignent bientôt le diamètre de $\frac{1}{2} \mu$, de 1 et 2 μ , constituant des formes bactériennes apparentes, arrondies, isolées ou diplococciques (*i*, *i*, *i* fig. 1, *d* fig. 10, pl. I et cellule *p* fig. 23, pl. I), ou bien étirées en diplocoques lancéolés (*x*, *x* fig. 1; *m* fig. 10 et *la*, *la*, *la* fig. 23, pl. I).

Il existe donc des inclusions vaccinales de forme bactérienne qui, par leur volume différent, forment des séries dans chacune desquelles existent des formes cocciques ou diplococciques, rondes ou lancéolées, parfois en chaînette. Nous n'avons pas observé les formes tétracocciques décrites par Gorini. Ces corpuscules sont fortement colorés en rouge lumineux, par la safranine et le rouge de Magenta, en noir par l'hématoxyline ferrique, en bleu violet par l'hématéine, en bleu foncé par la thionine, en rouge vif très brillant par la méthode de Mann, en rouge sombre par la fuchsine acide agissant seule. Au point de vue structural, les plus petits apparaissant comme un point scintillant, indistinct et les formes un peu plus volumineuses présentent une partie centrale plus réfringente. Ces corps sont à la fois acidophiles et basophiles: ils prennent les couleurs basiques bien plus fortement que la chromatine du noyau de la cellule et réagissent à peu près comme le nucléole. Avec la méthode de Mann, ils sont colorés par l'éosine en rouge très vif, comme le nucléole, tandis que la chromatine du noyau cellulaire est colorée en bleu. Ces inclusions très fines de la vaccine ont donc la même forme et les mêmes réactions colorantes que celles que nous avons décrites dans la clavelée (C. R. Soc. Biol. 17 oct. 1903) et c'est à cause de leur aspect, de leur structure et aussi de leur coloration que nous leur avons donné le nom de „formes bactériennes“.

b) Formes corpusculaires volumineuses. — Les formes bactériennes s'accroissent et atteignent 2, 3, 4 μ de diamètre, constituant de gros corps cocciformes (*g*, *h* fig. 10; *cm* fig. 2; *r*, *r*, *r* fig. 23, pl. I) parfois réunis deux à deux (*n*, *n*, *n* fig. 23, pl. I) ronds ou en gros di-

placoques lancéolés (*d* fig. 23, pl. I); les plus volumineuses sont irrégulières, en forme de gourde (*g* fig. 11; *g* fig. 23, pl. I), de point d'exclamation, d'haltère (*h* fig. 11, pl. I). Ces corpuscules volumineux qui entrent parmi les cytorictes de Guarnieri constituent, comme les formes petites, des corps hyperchromatiques, acidophiles et basophiles, mais leur périphérie commence à résister moins à la décoloration et leur partie centrale présente parfois une structure d'apparence vacuolaire.

c) Formes protoplasmiques nucléées petites. Elles constituent les cytorictes de Guarnieri et apparaissent très nombreuses à partir de la 48^e heure. Elles sont formées d'abord par une granulation chromatique entourée par un très mince anneau protoplasmique (*h*, *h* fig. 1, pl. I). On suit la filiation avec les formes précédentes par l'existence de formes à zone périphérique protoplasmique à peine différenciée et pour la recherche de laquelle d'excellentes fixations et colorations sont nécessaires. Ces formes augmentent de volume, atteignent 4 à 6 μ , présentent un protoplasma à bords arrondis (*a* fig. 4, pl. I) ou ondulés (*d*, *d*, *d* fig. 1, pl. I; *a* fig. 2, pl. II) ou d'aspect amiboïde avec des prolongements pseudopodiques parfois épineux ou étoilés (*b* fig. 3, pl. I; et *b* fig. 2, pl. II). Ce protoplasma se colore par l'éosine, l'orange G, la fuchsine acide, le picro-indigo carmin, l'induline, et renferme un grain chromatique ayant les mêmes réactions que les formes bactériennes, et séparé du protoplasma par un halo incolore, très réfringent, sans membrane, (fig. 3, 4 et 5, pl. I). Par la méthode de Mann, on obtient une différenciation éclatante; le protoplasma est d'un bleu pur et le grain chromatique rouge vif, très lumineux.

d) Formes protoplasmiques volumineuses (plasmodiales) uni- ou multinucléées. — Les inclusions protoplasmiques atteignent 6 et 8 μ , prennent un aspect amiboïde des plus marqué (*a* fig. 5; *do*, *do* fig. 1, pl. I) et renferment un gros grain chromatique vacuolé entouré d'un anneau clair plus apparent (*a* fig. 5, pl. I) ou bien 2 (*c* fig. 2, pl. II) à 6 granulations chromatiques (*a* fig. 6, pl. I). A mesure que leur volume augmente les granulations, plus fines et plus nombreuses, sont dispersées dans le protoplasma (fig. 7 et 8, pl. I). Elles peuvent devenir tellement fines et abondantes qu'elles se touchent presque, atteignent à peine $\frac{1}{5}$ de μ , et cachent le protoplasma sous-jacent; ce protoplasma devient très clair, paraît se dissoudre et la pointillé chromatique est mis en liberté. Ces formes sont identiques à celles que nous avons décrites pour la clavelée (Centralbl. f. Bakt. 1903 et C. R. Soc. Biol. 17 oct. 1903) et que nous avons comparées à des chromatozoïtes. Ces formes minimales constitueraient pour nous l'origine des formes bactériennes du parasite vaccinal; nous avons pu en effet montrer que dans le foyer vaccinal à la 36^e heure on saisit un rapport évident entre les grandes formes d'origine à divisions chromatiques extrêmement fines et les accumulations de formes bactériennes quasi invisible que l'on trouve dans la même cellule ou dans les cellules voisines.

Ces inclusions sont souvent très irrégulières, en forme de croissant portant des grains chromatiques épars ou amassés aux extrémités (fig. 8, pl. I), ou présentent des pseudopodes multiples effilés ou renflés avec des granulations chromatiques disséminées dans toute leur étendue et saillantes à leur périphérie. L'inclusion peut se diviser par étranglement.

en plusieurs segments, autant de corps nouveaux qui présentent les granulations chromatiques disposées en couronne périphérique. Le protoplasma de l'inclusion s'est différencié en une partie centrale colorée et en une partie périphérique claire dans laquelle se trouvent les granulations. Ces formes peuvent être rapprochées des formes à divisions extrêmement fines et très nombreuses, se séparer dans la lymphe et devenir l'origine d'un nouveau cycle de reproductions.

e) Divisions à mérozoïtes. — Il existe de nombreuses inclusions susceptibles de renfermer un volumineux corps chromatique (fig. 9, pl. I; *do, do* fig. 1, pl. II; *d* fig. 2, pl. II) qui s'accroît, devient vacuolaire, en forme d'anneau (fig. 12, pl. I) dans un protoplasma homogène, délicat et dépourvu de membrane (fig. 13, pl. I). Ce corps chromatique se divise en 4 à 6 fragments (fig. 14, pl. I) d'abord inégaux (fig. 15, pl. I) qui se portent à la périphérie et constituent une trentaine de grains égaux (fig. 16, pl. I) entourés d'un halo clair. L'inclusion prend un aspect typique de corps mûriforme (fig. 17, pl. I); l'on voit ensuite le protoplasma se condenser autour des divisions chromatiques pour constituer des corps protoplasmiques nucléés arrondis, puis des corps pisciformes (fig. 18, pl. I) qui deviennent libres dans la vacuole cellulaire autour d'une petite masse granuleuse de reliquat. Ces corps pisciformes que nous n'avons pu observer qu'une fois dans une cellule de pustule de cornée du lapin au 3^e jour, présentaient une extrémité arrondie et une autre effilée, avec un grain de chromatine plus rapproché de l'extrémité renflée; ils avaient donc les caractères précis de petits mérozoïtes (fig. 18, pl. I). Nous avons pu encore observer dans la pustule cornéenne du lapin des formes dans lesquelles un volumineux corps chromatique vacuolé et rayonné, entouré par une aréole claire, occupait les $\frac{2}{3}$ du protoplasma de l'inclusion (fig. 19, pl. I); ce corps chromatique se divisait en 2 puis 4 parties, qui se portaient à la périphérie en s'entourant d'une large zone claire, (fig. 20, pl. I), puis en 8 parties qui s'enchaînaient sur les bords du protoplasma en faisant saillie à l'extérieur (fig. 21, pl. I). Le protoplasma se condense partiellement autour d'eux et l'on arrive à avoir dix corps protoplasmiques nucléés, arrondis (*a* fig. 22, pl. I) et disposés en cercle autour d'une masse protoplasmique granuleuse (*c, d* fig. 22, pl. I). Il ne s'agit pas là d'un kyste renfermant des spores, mais d'une cellule vacuolisée, qui renferme de gros mérozoïtes encore au stade qui précède la forme allongée caractéristique.

Dans la pustule cutanée on note des formations équivalentes en nombre extrêmement considérable; ce sont les grandes masses plasmodiales à nombreuses et volumineuses divisions chromatiques disséminées et dont les réactions colorantes sont si nettement différenciées: protoplasma bleu et grains rouges avec la safranine-picroindigocarmin (fig. 1, pl. II); protoplasma rose et grains noirs avec l'hématoxyline ferrique et l'éosine; grains rouge vif dans un protoplasma bleu cobalt avec la méthode de Mann (fig. 2, pl. II). On peut suivre dans la pustule cutanée le développement de ces formes plasmodiales multinucléées aux dépens des formes bactériennes des inclusions (fig. 1, pl. 2); les inclusions bactériennes (*b, b* fig. 1, pl. II) se transforment en petits corps protoplasmiques nucléés (*d* fig. 1, pl. II) puis en corps amiboïdes à gros noyau (*do* fig. 1, pl. II et *d* fig. 2, pl. II) et en masses multinucléées (*h* fig. 1, pl. I; *x* fig. 2, pl. II) qui s'accroissent et constituent les grandes formes plasmodiales de 25 à 40 μ , à grains chromatiques nombreux et

à formes variées (*r*, *g*, *x*, *xa* fig. 1; *m*, *mo*, *mh* fig. 2, pl. II). Le protoplasma se condense autour des grains chromatiques pour former des corps arrondis, nucléés qui se séparent dans la cavité cellulaire et finissent par tomber dans la lymphe (C. R. Soc. Biol. 17 oct. 1903). Il s'agit là non de spores mais d'une division schizogonique typique du parasite de même ordre que celle que nous avons décrite dans la clavelée (Centralbl. f. Bakt., 1903, N^{os} 5, 6, 7 et C. R. Soc. Biol. 17 oct. 1902).

f) Formes à division karyokinétique. — Nous devons signaler, dans la vaccine, l'existence de formes que nous avons notées comme très fréquentes dans la clavelée (Centralbl. f. Bakt. 1903 et C. R. Soc. Biol. 17 oct. 1903, fig. 15 et 16) et qui sont constituées par une masse protoplasmique dont le noyau présente des figures qui se rapprochent beaucoup des figures de karyokinèse. Guarnieri avait déjà observé, dans le parasite vaccinal, des formations étoilées ou des filaments qui partent du centre comme des rayons et divergent un peu en serpentant vers la périphérie et qui, colorés en bleu, dans un protoplasma rose, peuvent être interprétés comme une image de Monaster. On observe en effet dans certaines inclusions volumineuses la chromatine disposée en filaments formant réseau, avec des points nodaux. Ce réseau est exactement limité à la surface de l'inclusion et ne traverse pas la zone claire pour se continuer avec un réseau similaire du protoplasma de la cellule-hôte. Il se comporte exactement comme un réseau chromatique propre à l'inclusion et identique à celui que nous avons figuré avec précision pour la clavelée (C. R. Soc. Biol. 17 oct. 1903, fig. 16 à 22). On pourrait penser que ce réseau assimilable aux chromidies de Hertwig, est en rapport avec une sorte de formation chromosomique qui précède la division mitotique, comme cela a été noté chez certains protozoaires. Mais nous pensons, en comparant les figures que nous avons observées dans la vaccine avec les formes très nombreuses que nous avons vues dans la clavelée qu'il s'agirait d'une sorte de karyokinèse primitive avec fragmentation du réseau et formation de corpuscules ayant la valeur de chromosomes et aptes à constituer de petits corps en flammèche assimilable à des chromatozoïtes vrais.

B. Types évolutifs. — On voit que cette étude des inclusions nous amène à conclure non seulement à l'existence de formes et de structures précises mais à la possibilité de classer ces inclusions suivant des cycles évolutifs non douteux et caractéristiques du développement des protozoaires. Nous avons constaté 4 modes principaux de reproduction:

- 1) par division directe qui ne s'applique qu'aux formes dépourvues de protoplasma et que nous avons nommées „formes bactériennes“; cette division peut se faire par étranglement ou étirement en 2 ou plusieurs parties (formes en chaînette);
- 2) par divisions successives du corps chromatique aboutissant à la formation d'une poussière chromatique qui donne naissance aux formes bactériennes;
- 3) par division suivant un type de karyokinèse, formation et fragmentation d'un réseau en corpuscules, susceptibles, sans doute, de donner des chromatozoïtes;
- 4) par division avec formation de Mérozoïtes: on suivra l'évolution complète de cette forme en examinant les figures 12 à 19 de la pl. I, avec formation d'un corps mûriforme et différenciation en micromérozoïtes typiques ou en corps ronds

nucléés, autour d'une masse de réliquat (fig. 12 à 19 et 19 à 22, pl. I). Les grandes formes plasmodiale multinucléées nous paraissent devoir entrer dans cette dernière catégorie.

Les parasites du vaccin constituent donc un parasite vrai qui se reproduit suivant un processus schizogonique dans les cellules de la néoformation vaccinale et qui doit être classé parmi les protozoaires.

C. Nature de la capsule hyaline. — Guarnieri pensait que les cytotryctes se creusaient une niche sphéroïdale proportionnée à leur grandeur, en rongant le protoplasma jusqu'à la membrane cellulaire. Pour Salmon, il s'agit aussi d'une cavité qui finit par s'ouvrir dans la cavité périnucléaire. Nous verrons, d'une part, que la zone claire qui entoure l'inclusion n'est pas une cavité et, d'autre part, que les lésions cellulaires ne sont pas localisées au voisinage du parasite mais sont diffuses dans tout le protoplasma et le noyau. Les cellules jeunes à noyau intact et à protoplasma foncé et des cellules en karyokinèse normale renferment des inclusions très petites, sans présenter aucune lésion de plasmolyse. Puis la cellule présente, avec le développement de l'inclusion, une hypertrophie claire, puis une plasmolyse qui ne débute pas autour de l'inclusion mais en un point quelconque de la cellule et souvent autour du noyau. Sous l'influence de la plasmolyse il se fait une raréfaction du protoplasma réduit à une tramule et enfin une vacuole; les vacuoles se réunissent et la cellule constitue un utricule à membrane épaisse: or, l'inclusion demeure souvent localisée pendant une longue partie de son développement dans la partie du protoplasma la moins lésée et qui résiste le plus longtemps à la vacuolisation. Les lésions ne dépendent donc pas de l'action mécanique directe du parasite mais de l'action de ce dernier sur la nutrition cellulaire.

La zone claire n'est d'ailleurs pas une vacuole. Elle n'est pas proportionnée au volume de l'inclusion comme le voulait Guarnieri car l'on peut voir une large zone claire autour d'un très fin corpuscule. Elle présente une haute réfringence et est colorable à sa périphérie où elle s'épaissit en une sorte de bourrelet qui refoule le protoplasma de la cellule-hôte et cette action excentrique explique la forme parfaitement ronde ou ovale de la zone claire. Celle-ci peut se détacher, à sa périphérie, du protoplasma cellulaire et s'effiloche en pointes étoilées, par rétraction autour de l'inclusion à laquelle elle demeure attachée. La zone claire apparaît donc comme formée par une substance homogène, réfringente, difficilement colorable, dépendant de l'inclusion à laquelle elle constitue une sorte d'ectoplasme qui refoule le protoplasma cellulaire et doit servir à la protection de parasite (capsule protectrice) mais sans doute aussi à la transformation des matériaux nécessaires à la nutrition.

Gorini (46) a apporté une preuve intéressante en faveur de l'existence de la capsule hyaline en montrant que l'inoculation de *Plasmodiophora brassicae* à la cornée du lapin permet le développement, autour des parasites intracellulaires, d'une zone claire, hyaline identique à celle des inclusions vaccinales et qui, colorable à la périphérie est intimement réunie au parasite. L'existence d'une capsule hyaline épaisse et résistante serait une constatation importante au point de vue des moyens de défense dont dispose le parasite; elle serait assimilable aux capsules des bacilles tuberculeux et paratuberculeux.

IV. Comparaison entre les inclusions vaccinales et certains protozoaires.

L'étude générale de la forme, de la structure, des réactions colorantes et des types évolutifs nous a conduit à faire entrer les inclusions vaccinales parmi les protozoaires. Nous devons entrer dans une étude comparative plus précise.

1) Structure. — Les inclusions vaccinales les plus typiques (fig. 12 à 19, pl. I) renferment un ou plusieurs corps hyperchromatiques, basophiles et acidophiles qui se rapprochent du nucléole de la cellule-hôte; la méthode de Mann, en particulier, montre le corps chromatique du parasite coloré en rouge vif, comme le nucléole de la cellule-hôte tandis que la chromatine du noyau est d'un bleu foncé. Nous avons déjà indiqué que les réactions colorantes de ce corps chromatique, dans la clavelée, la vaccine, la variole, permettent de les rapprocher du karyosome des protozoaires (C. R. Soc. Biol. 17 oct. 1903). Les karyosomes sont en effet des corps hyperchromatiques basophiles et acidophiles de par les 2 substances qu'ils renferment et nous nous sommes assuré que le karyosome de l'hématozoaire et de divers protozoaires présente les mêmes réactions que les corps chromatiques des inclusions vaccinales, en particulier devant la méthode de Mann. Comme le karyosome renferme de la plastine à réaction acidophile (qui constitue la substance nucléolaire du noyau des métazoaires) nous comprenons la similitude des réactions qui unit le karyosome, le nucléole et le corps chromatique de nos inclusions. De même que le karyosome, le corps chromatique des inclusions peut présenter une structure vacuolaire et nous avons signalé, pour les inclusions claveleuses, l'existence d'un petit corps chromatique accolé au gros et qui peut être assimilé à un karyosome secondaire (C. R. Soc. Biol. 17 oct. 1903. fig. 4).

Nous pouvons donc assimiler les corps chromatiques de nos inclusions vaccinales aux karyosomes.

Entre le karyosome et le protoplasma de ces inclusions nous avons noté un anneau clair, réfringent, incolore, sans membrane. Peut-être faut-il l'assimiler à la zone claire qui entoure le karyosome de l'hématozoaire et qui est interprétée comme un noyau. Quant aux formations chromatiques disposées en un réticulum à points nodaux à la surface de parasite, nous avons indiqué précédemment qu'elles peuvent être assimilées aux chromidiums de Hertwig et nous avons aussi qu'il existe des dispositions tout à fait semblables qui précèdent la division karyokinétique, chez certains infusoires; on pourrait penser encore, et ce que nous avons observé pour les parasites de la clavelée nous fait nous arrêter à cette opinion, que le réseau chromatique et les fragments qui en résultent sont le produit d'une karyokinèse primitive qui s'éloigne plus ou moins du type que nous connaissons chez les métazoaires.

Le protoplasma homogène, délicat, sans membrane, d'aspect amiboïde, disposé d'abord en anneau très fin autour du karyosome, augmente de volume et peut arriver à constituer une masse amiboïde qui s'étale en un gros plasmode irrégulier pseudopodique, avec des étranglements plus ou moins prononcés. Ces formes sont très nettes à l'état frais et elles ont été bien vues par Hückel (28); elles sont aussi très apparentes, après coloration, et, par leur disposition générale, leurs réactions devant l'éosine, la fuchsine acide, l'orange, la méthode de

Mann, le protoplasma présente les réactions de celui de l'hématozoaire.

C'est dans ce protoplasma que le karyosome va se fragmenter pour aboutir à la formation d'une véritable poussière chromatique ou, par condensation du protoplasma, à la formation de corps protoplasmiques nucléés qui abandonnent une masse de reliquat et constituent des mérozoïtes. Ces stades présentent une grande ressemblance avec ceux de nombreux protozoaires. Par la méthode de Mann, nous avons mis en évidence des formes d'inclusion dont la ressemblance est saisissante avec certaines formes de l'hématozoaire: par exemple, ces inclusions vaccinales en forme de croissant coloré en bleu avec les divisions karyosomiques rouge vif groupées aux deux extrémités, ou encore ces formes plasmodiales pseudopodiques à divisions karyosomiques disséminées. On a opposé à la nature parasitaire des inclusions l'inégalité des divisions chromatiques et leur aspect parfois anguleux ou en flammèche; mais il serait bien peu conforme à la vérité de prétendre que les divisions karyosomiques, chez les protozoaires, sont toujours rondes et égales. Elles peuvent être irrégulières, inégales, anguleuses et nous n'en voulons pour preuve que l'hématozoaire. Nous avons bien noté d'ailleurs que les grains chromatiques de nos inclusions s'égalisent avec les progrès de la division.

Il nous reste à dire un mot au sujet des formes bactériennes des inclusions: ce sont, nous l'avons dit, des corpuscules dépourvus de protoplasma et présentant les réactions des grains chromatiques des inclusions volumineuses: elles sont donc assimilables à des karyosomes nus dont la finesse peut devenir excessive par pulvérisation d'une masse karyosomique. On peut les comparer aux chromatozoïtes, formés eux aussi à peu près uniquement de substance chromatique et qui sont, comme les formes bactériennes de nos inclusions, des agents d'infection aiguë. Elles sont également comparables à ces corpuscules fins, à réaction chromatique, qu'on a trouvé dans le sang des malariens et qui seraient considérés comme l'agent de l'infection malarienne suraiguë. Dans des cas de coccidiose extrêmement virulente du lapin, nous avons observé des formes corpusculaires très petites, hyperchromatiques, autour desquelles le protoplasma n'était pas décelable et dont la périphérie ne commençait à se différencier que lorsqu'elles atteignaient une certaine taille.

2) Modes de reproduction. — Nous avons montré, pour le parasite vaccinal, l'existence d'un mode de reproduction par division directe et les différents stades d'un processus schizogonique. Nous n'avons pas pu constater de mode de reproduction sporogonique: les formes kystiques sporulées de Funck, comme nous l'avons vu, se rapportent à des globules blancs, à des cellules sébacées parasitées ou à des cellules utriculaires renfermant de gros plasmodies multinucléées (pseudo-kystes). Au contraire dans la variole nous avons décrit des formes sporulées intranucléaires volumineuses (Soc. Biol. oct. 1903).

3) Habitat intracellulaire. — Les inclusions vaccinales ont un siège intracellulaire et ne tombent dans la lymphe qu'avec la destruction de la cellule-hôte; seules les formes bactériennes peuvent émigrer et pénétrer dans les cellules néoformées. Elles présentent une affinité particulière pour les cellules épithéliales de la peau et des organes, mais elles peuvent se développer également dans les cellules conjonctives. Cet habitat intracellulaire surtout épithélial est un caractère propre à de nombreux protozoaires. Pour les sporozoaires, on avait même pensé que

cet habitat se limitait pour chacun d'eux à une cellule épithéliale d'espèce déterminée (intestin, rein, foie). En réalité, cette limitation de l'habitat n'est pas absolue, surtout si au lieu de se limiter aux sporozoaires saprophytes (ce qui est antiscientifique) on étudie les sporozoaires pathogènes: on constate qu'un même parasite peut habiter non seulement plusieurs espèces de cellules épithéliales, mais encore des cellules conjonctives fixes ou des cellules mobiles comme les leucocytes et les hématies. *Cyclospora caryolitica* après avoir envahi les cellules épithéliales de l'intestin de la taupe et déterminé de l'entérite gagne les cellules conjonctives de la sous-muqueuse et pénètre dans les leucocytes de la paroi (Schaudinn). *Adélea Mesnili* qui fait son évolution saprophytique dans une cellule conjonctive (cellule des corps adipeux) peut produire une infection généralisée avec envahissement de toutes les cellules de l'économie, sauf les cellules nerveuses: cellules péricardiales, cellules des tubes de malpighien, cellules musculaires et hypodermiques (Perez, Arch. für Protistenkunde, II, 1903, p. 1). De même l'hématozoaire pénètre dans les globules rouges du sang et peut pénétrer dans les leucocytes et les cellules endothéliales.

4) Action sur la cellule-hôte. — Les cellules qui renferment des inclusions vaccinales subissent des modifications que nous avons longuement étudiées et qui vont de l'hypertrophie simple, à l'hypertrophie claire, à la vacuolisation et à la plasmolyse totale ou à une dégénérescence cornée ou colloïde. C'est d'abord le noyau qui présente une augmentation de son réseau de chromatine, puis une distension globuleuse avec condensation de la chromatine et enfin une transformation vésiculeuse. Des modifications identiques ont été observées pour les cellules parasitées par les coccidies ou les grégaires. Leuckart, Chatin, Schaudinn, Siedlecki, Laveran, Mesnil, ont montré qu'il se produit d'abord une lésion cellulaire caractérisée par l'hypertrophie simple, puis la grande hypertrophie claire, avec vacuolisation du protoplasma, celle-ci transformant la cellule en un sac qui contient le parasite; le noyau subit également, et le premier, une hypertrophie avec augmentation de la chromatine, puis un gonflement avec condensation de la chromatine et hypertrophie du nucléole. J'avais déjà montré dès 1898 (F. J. Bosc, Le Cancer, Paris [Naud] 1898, p. 162) que *Coccidium oviforme* peut déterminer une hypertrophie globuleuse des cellules malpighiennes avec dégénérescence kératique des cellules voisines, aboutissant à la formation de globes épidermiques. Des recherches, non encore publiées, sur les lésions du foie dues à *C. oviforme* nous ont fait voir que les cellules épithéliales biliaires et hépatiques subissent une hypertrophie claire colossale, avec gonflement vésiculeux du noyau, condensation de la chromatine et se terminent par une plasmolyse et une nucléolyse totales.

5) Réaction cellulaire pure, a type néoplasique des tissus. — Nous avons vu que les réactions déterminées par le virus vaccinal, et qui sont celles de tout le groupe bryocytaire, sont caractérisées par la prolifération karyokinétique énergique des cellules épithéliales et conjonctives suivie d'hypertrophie et de désorientation et aboutissant à des néoformations de type néoplasique indubitable; papillome, épithélioma corné, adénomes et adénoépithéliomes.

C'est là encore le caractère propre des réactions déterminées dans l'organisme par les sporozoaires surtout pathogènes: absence de processus phlegmasique banal, prolifération avec hypertrophie et désorien-

tation des cellules capable d'aboutir à une véritable formation néoplasique. Nous décrirons prochainement, au niveau du foie du lapin, sous l'influence de *C. oviforme*, un processus néoplasique qui dépasse l'adénome papillaire pour arriver à l'adéno-épithéliome.

6) **Mouvements amiboïdes.** — Nous avons discuté longuement, en faisant l'étude de la lymphe vaccinale la question controversée des mouvements amiboïdes des parasites vaccinaux. A ce que nous avons dit plus haut j'ajouterai les recherches de Walter Reed (20) qui aurait observé, dans le sang d'enfants, de veaux et de singes vaccinés, des corps amiboïdes granuleux ayant un diamètre égal au $\frac{1}{3}$ d'un globule rouge. La démonstration de la nature virulente vaccinale de ses corps nous paraît loin d'avoir été faite par cet auteur et la lecture de ces observations nous inclinerait plutôt à penser qu'il s'agirait simplement de plaquettes du sang. La remarque que présente Gaylord (63) pour leur défense à savoir que les figures de Walter Reed ressemblent aux formes amiboïdes de *Plasmodiophora brassicae* n'apporte pas une preuve suffisante. De nouvelles observations sont indispensables. L'observation des mouvements amiboïdes devient d'autant plus difficile que l'on observe l'inclusion dans la cellule et qu'elle est plus volumineuse et cette constatation est générale pour la plupart des protozoaires intracellulaires.

7) **Affinité pour une espèce animale déterminée.** — L'on sait que les sporozoaires ont un habitat très souvent spécialisé mais cet habitat peut s'étendre à plusieurs espèces animales voisines. Il en est de même pour les maladies bryocytique pour certaines desquelles la spécialisation de l'habitat peut être très étroite: c'est ainsi que la clavelée ne se développe que chez le mouton, que la variole et la syphilis sont des maladies propres à l'espèce humaine, que la vaccine n'apparaît spontanément que chez le cheval etc.

8) **Culture.** — La lymphe vaccinale ensemencée au début de la vésiculation ne donne pas de culture et le vaccin devenu bactériologiquement stérile peut être encore virulent. Aucun d'ailleurs, des microbes soi-disant vaccinaux n'a été capable, après cultures en séries, de reproduire la lésion vaccinale typique et nous avons vu que les caractères histologiques ne sont pas en rapport avec une origine microbienne. Aussi n'est-ce pas sans quelque surprise que l'on voit, par exemple, Nakanishi (31) décrire, comme spécifique, un microbe de culture facile et dont l'inoculation ne donne aucun résultat positif sérieux. Les recherches d'Ishigami (47) seraient importantes puisque cet auteur aurait cultivé un véritable sporozoaire dont les formes seraient semblables à celles de *Microsporidium bombycis*; mais Ishigami n'a pas donné la formule de son milieu et ses affirmations ne sont pas vérifiables.

Ici se pose la question de savoir si la culture des sporozoaires est possible. Nous arrivons à cultiver certains protozoaires, mais les sporozoaires, auxquels le parasite vaccinal nous paraît appartenir, n'ont jamais pu être cultivés. Il faut d'ailleurs bien s'entendre sur le sens du mot culture, suivant que l'on envisage la multiplication en séries indéfinies, ou le simple développement cyclique d'un parasite dans un même milieu. Si l'on étend à ce dernier mode d'observation la signification de culture nous pouvons dire que la culture est possible. Nous l'avons réalisée pour *C. oviforme* dans l'œuf et dans le sang de lapin rendu incoagulable par l'extrait de sangue, et nous pouvons dire avec une entière certitude que nous avons

cultivé le sporozoaire du cancer. Après ensemencement de fragments et de raclages cancéreux dans du sang incoagulable nous avons pu suivre de très près à la maturation de kystes volumineux à grosses spores, assister à la mise en liberté de ces spores dont la structure précise ne pouvait laisser le moindre doute dans notre esprit. Nous avons consigné une partie de nos observations dans notre livre sur le Cancer (Paris [Naud] 1898) en insistant également sur la présence de corps ronds, en navette, amiboïdes, possédant un noyau et que nous avons figuré en même temps que les formes kystiques et les spores (F. J. Bosc, Le Cancer, 1898, planche X, fig. 8 à 25). Les essais plus récents de tissus cancéreux par Nils Sjöbring ne font que confirmer nos propres résultats (41).

En même temps que ces cultures des agents cancéreux, nous avons tenté la culture du virus vaccin sur le sang de lapin incoagulable. Nous avons obtenu plusieurs passages qui se sont montrés positifs chez le lapin, mais rien ne démontre qu'il y ait eu culture réelle; comme les réensemencement étaient faits avec une assez grande quantité du milieu ensemencé, il ne s'est agi, probablement, que d'une simple dilution. Nous avons repris les expériences d'une façon systématique mais déjà les formes bactériennes que nous avons mis en évidence pour la clavelée, la vaccine, la variole nous laissent penser à la possibilité de cultures vraies.

V. Objections à la nature parasitaire des inclusions.

Après les démonstrations qui précèdent il nous reste à montrer qu'aucune des hypothèses émises contre la nature parasitaire des inclusions ne résiste à l'examen.

1) Origine leucocytaire. La pustule cornéenne de 24 heures entièrement formée par une prolifération épithéliale pure renferme une énorme quantité d'inclusions alors que le chorion est dépourvu de vaisseaux et de leucocytes. Il y a d'ailleurs impossibilité pour les leucocytes de produire dans des cellules absolument saines et de prolifération récente, des inclusions de $\frac{1}{6}$ à $\frac{1}{6}$ de μ , qui pullulent en rayonnant du centre vers les cellules néoformées de la périphérie (voir figures 1 et 23, pl. I). La filiation de ces formes très petites avec les formes de 2 à 5 μ doit faire écarter l'origine leucocytaire de ces dernières et l'on ne verra pas la possibilité de confondre, avec un polynucléaire, nos inclusions plasmodiales multinucléées, de taille colossale (voir les figures de la pl. I et de la pl. II).

D'ailleurs, la pénétration des polynucléaires dans la pustule non infectée ne se fait que vers le 5^e jour, c'est-à-dire juste au moment où la prolifération cellulaire et la pullulation des inclusions parasitaires s'arrêtent, grâce à l'apparition de l'immunité.

Du chorion vascularisé, les polynucléaires pénètrent dans les interstices des cellules épithéliales et peuvent s'y fragmenter mais avec des formes, une structure et des réactions colorantes qui ne sont pas celles des inclusions. En outre, aucun observateur n'a pu suivre objectivement la transformation d'un leucocyte en une inclusion cellulaire.

Certaines grandes formes d'inclusion à noyau volumineux (fig. 19, pl. I) peuvent être comparées à un mononucléaire mais la structure homogène du protoplasma dépourvu de toute membrane, la structure du noyau vacuolaire, l'évolution de ces inclusions par division de la chromatine suivant un processus de karyokinèse primitive, — ne permettent pas de s'arrêter à l'hypothèse d'un mononucléaire phagocyté par une cellule épithéliale.

2) Origine nucléaire. — Elle n'est discutable que pour les formes bactériennes des inclusions. Gorini (46) après avoir remarqué, dans une bonne étude, que la substance chromatique du noyau de la cellule se condensait en amas entourés d'une zone claire ressemblant aux inclusions, — a pensé que cette inclusion intranucléaire pouvait passer dans le protoplasma et y présenter tous les caractères du cytoryctes. Ces faits ne sont pas justifiés par l'observation, comme nous l'avons déjà démontré. La chromatine du noyau se condense en boules, mais la membrane demeure longtemps intacte; la chromatine ne sort du noyau que dans quelques cellules épidermiques en dégénérescence

corné où elle transsude, à travers une membrane ratatinée, sous forme de gouttelettes hyperchromatiques. Les réactions colorantes, la limitation et la structure de ces gouttelettes, l'évidence de leur origine nucléaire ne permet pas de les confondre avec une inclusion vraie. Gorini a été trompé par des invaginations périnucléaires de parasites que déprimait la membrane comme un long doigt de gant, laissant penser à une situation intranucléaire véritable. D'ailleurs Gorini a douté lui-même de cette origine des inclusions lorsqu'il a constaté l'existence d'une „poussière chromatique“ intraprotoplasmique sur laquelle il ne veut pas se prononcer et qui représente, comme je l'ai montré ci-dessus, les formes bactériennes des inclusions. Nous avons montré également que les formes bactériennes présentent les réactions du karyosome; or celles-ci se rapprochent des réactions du nucléole, de sorte que l'on peut se demander, avec Babès (10) si les inclusions ne sont pas des fragments de nucléole réjetés par le noyau dans le protoplasma. D'abord, on n'assiste jamais à la sortie du nucléole qui s'hypertrophie, devient diffus et disparaît; d'autre part, l'existence d'inclusions à protoplasma nucléé ne permet pas de s'arrêter à cette hypothèse.

3) Origine protoplasmique. Elle a été défendue surtout par Hückel dans un travail (28) accompagné de belles planches. Mais l'examen des figures montre qu'il n'est pas possible de confondre les inclusions vraies bien dessinées par Hückel avec les figures qui représentent réellement des dégénérescences protoplasmiques (fig. 149, 150, 151 de la pl. IV de Hückel), d'autant qu'on ne trouve pas de formes intermédiaires qui permettraient de les réunir les unes aux autres. La dégénérescence d'une cellule enkystée ne donne jamais de figure comparable aux inclusions ni par la forme, ni par la structure, ni par les réactions colorantes et nos recherches nous permettent de penser que les parasites enfermés dans une cellule en kariokinèse normale (et *visu* par Hückel), ne peuvent pas être confondus avec des produits de dégénérescence des chromosomes de certaines mitoses anormales.

Si la fixation des pièces est parfaite, de façon à éviter les effilochures et les éclatements du protoplasma et des parasites, l'on se rend compte qu'il n'est pas possible de mettre en cause une dégénérescence du protoplasma. Les formes bactériennes apparaissent d'ailleurs dans un protoplasma normal et nous avons vu que la zone hyaline n'est pas une vacuole et que non seulement le protoplasma ne dégénère pas au contact immédiat du parasite mais que c'est souvent le protoplasma voisin de l'inclusion qui résiste le plus longtemps à la plasmolyse.

4) Les grains d'Éléidine ne se rencontrent que dans les cellules kératinisées de la surface et des globes; ils ont la forme de corps irréguliers, dépourvus de structure, à bords anguleux qui les font ressembler à une poussière résultant du broyement d'un corps cristallisé; ils ne présentent pas de zone hyaline, ne sont pas visibles après coloration par le Biondi et A. Foa (52) a montré que si l'on traite les cellules par une solution de NaCl à 10 pour cent l'éléidine granuleuse se transforme, comme Ranvier l'avait indiqué, en éléidine diffuse.

5) Reproduction des inclusions par des irritations banales. Monti, Pfeiffer, Salmon, Hückel, Gorini, Bassalino etc., n'ont jamais pu obtenir la formation d'inclusions vaccinales typiques après l'action des agents les plus variés; de même Wasielewsky et A. Foa n'en ont pas davantage obtenu après des lésions traumatiques aseptiques et des scarifications de la cornée. On ne constate que des granulations et des débris protoplasmiques en rapport avec un processus phlegmasique banal. Nos expériences personnelles nous avaient déjà conduit aux mêmes conclusions, (24, 25) en ce qui regarde l'action des microbes et des toxines microbiennes sur la cornée. Nous avons vu que la toxine colibacillaire et la toxine diphtérique, en particulier, produisent des désintégrations protoplasmiques qui n'ont rien à voir avec les inclusions véritables. Les recherches récentes de A. Foa confirment cette manière de voir. Aussi ne pouvons-nous admettre les résultats obtenus par Sikorsky (51) avec la toxine diphtérique, c'est-à-dire la production de corps qu'il soit facile de confondre avec les inclusions parasitaires.

VI. Pathogénie et histogénèse.

A. Pathogénie.

Le vaccin doit sa virulence à un parasite vrai, de la classe des protozoaires, à développement intracellulaire et qui provoque des proliférations cellulaires d'ordre néoplasique à la peau et dans les parenchymes. D'abord localisé dans la pustule d'inoculation, le parasite, mis en liberté par la destruction cellulaire, passe dans les lymphatiques (lymphite et adénite indurées) et peut envahir le sang pour provoquer

une éruption généralisée. Chez la plupart des animaux autres, que le poulain l'inoculation de vaccin même dans les veines ne produit pas d'éruption généralisée: ils sont partiellement immunisés.

Nous avons vu que le passage du virus dans le sang se faisait peu de temps après l'inoculation, d'après l'expérience de cheveaux: si l'on excise, chez le poulain, des lambeaux de peau qui ont reçu depuis 24 heures l'inoculation vaccinale, on voit cependant évoluer, 15 à 20 jours après, un horse-pox généralisé. Mais, à cause de cette durée exagérée de la période prééruptive il est possible de penser qu'une petite quantité de virus avait déjà pénétré dans les espaces lymphatiques de la peau voisine du point excisé et y avait cultivé pour pénétrer ensuite dans le courant circulatoire.

Ce virus est peu abondant dans le sang et n'y séjourne pas. Il ne fait que traverser le courant sanguin pour revenir aux épithéliums. L'expérience de Calmette et Guérin prouverait que la disparition du virus dans le sang est faite en 24 heures.

Etant donné que le passage d'une très petite quantité de virus, dans le sang, produit l'état réfractaire, il s'en suit que la preuve de l'existence des virus dans un liquide donné sera fournie par la production de l'immunité; la suite d'une injection intraveineuse de cette substance. Or si l'on injecte du vaccin dans les veines d'un lapin et si l'on retire du sang pour l'inoculer dans les veines d'un lapin neuf, le sangre détermine aucun état réfractaire quel que soit le moment où on l'a prélevé (58.) Il semble donc que, chez le lapin doué d'une immunité naturelle partielle, le virus soit détruit immédiatement après sa pénétration dans le sang, ce qui est tout à fait contradictoire de l'expérience de Calmette et Guérin, expérience que Rehns aurait d'ailleurs vainement tenté de reproduire. Peut-être faut-il penser que le sang du lapin inoculé dans les veines ne contenait qu'une très petite quantité de virus qui, atténué par un premier passage dans le sang, l'a été encore plus par ce second passage chez un lapin normal. Cette explication me paraît rendue plausible par une autre expérience de Rehns (58) et dans laquelle un mélange de virus et de sang ne détermine aucun état réfractaire, après inoculation dans les veines.

A un point de vue général, le virus vaccin se conduit, vis-à-vis des animaux partiellement immunisés, comme le virus claveleux vis-à-vis des moutons algériens: la réceptivité diminuée de ces derniers permet la production d'une pustule au point d'inoculation mais, lorsque les parasites claveleux passent dans le courant circulatoire il se produit une atténuation suffisante de ces parasites par le sang, pour empêcher la production d'une éruption généralisée et consécutivement une immunisation définitive de la peau et des organes. Nos expériences nous ont montré que, pour la clavelée, il est toujours plus facile de produire l'immunité du sang que celle de la peau. L'injection de 15 ccm de sérum anticlaveleux suivie d'une inoculation de virus à la peau, chez un animal sensible, permet l'évolution d'une pustule cutanée mais empêche l'apparition de l'éruption généralisée. C'est ce que j'ai appelé l'hémo-immunisation (43) et j'ai porté avec succès dans la pratique la méthode qui consiste à faire simultanément une injection de sérum anticlaveleux et l'inoculation de claveau. J'ai donné à cette méthode le nom de séro-clavelisation et l'ai appliquée au traitement préventif de la clavelée; l'immunisation est définitive tandis que par la simple injection de sérum l'animal redevient rapidement sensible au virus.

Figurenerklärung.

Figure 1. Pustule cutanée vaccinale au 4^e jour, chez le lapin: *a* bourgeonnements papillomateux périphériques à cellules sombres; *b* prolifération et hypertrophie demiclaire des cellules; *d* transformation claire des cellules; *cla* grandes cellules claires en voie de plasmolyse avec kératinisation des bords; *po, po* bourgeonnements volumineux qui se réunissent pour former une nappe de cellules claires (*m, m*); *h, h* desquamation cornée; *col* cellules en dégénérescence colloïdo-cornée totale; *ker* volumineuse cellules claires en dégénérescence kératohydropique; *to* partie centrale mince du toit; affaissée; *pon, pon* ponts cellulaires qui séparent les petites cavités vésiculaires et dont la destruction aboutit à la grande vésicule; *g, g, g* globes épidermiques; *ky* cellule épithéliale libre devenue globuleuse, kystiforme; *s, s* dégénérescence cellulaire progressant suivant l'axe des bourgeonnements profonds; *cla* partie moyenne de la zone épithéliale formée de cellules claires qui s'enfoncent comme un coin dans la prolifération périphérique; *no, no* nodules périvasculaires; *v, v* vaisseaux, atteints d'un processus prononcé d'endopérivascularite; *map* nappe conjonctive à grandes cellules; *ly* V. lymphatiques dilatés; *seb* glande sébacée en transformation du type malpighien.

Figure 2. Nodule conjonctif périvasculaire: *end* endothélium hypertrophié; *pe, pe* cellules périthéliales; *cel* grandes cellules vaccinales; *ep* cellule épithélioïde; *a, b, c* grandes cellules vaccinales tassées et difficiles à distinguer de la cellule épithéliale (*d*); *g, g* cellules conjonctives au début du processus hypertrophique; *h, h, h* cellules réduites à un volumineux noyau; *s, s, s* travées conjonctives dissociées au centre où il ne reste que des débris (*tra*) et de plus en plus épaisses, vers la périphérie; *ka* cellules épithéliales en karyokinèse.

Figure 3. Prolifération conjonctivo-vasculaire de la pustule vaccinale: *go, go* partie superficielle en contact avec l'épithélium et commençant à être infiltrée par les leucocytes; *x* nappes de prolifération des grandes cellules conjonctives dans une fine trame conjonctive; *va, va* vaisseaux atteints d'endopérivascularite; *ly* vaisseau lymphatique dilaté; *m, m, m* faisceaux musculaires dissociés dans la profondeur.

Figure 4. Coupe de pustule du rebord labial chez le lapin; aspect néoplasique cancéreux: *c* globe épidermique composé; *b, b* globes épidermiques; *r, r* cellules enkystées; *m* cellule en hypertrophie claire à deux noyaux; *s* cellule sébacée parasitée; *i, i, i* inclusions de petite taille; *cr* inclusions plus volumineuses; *in* inclusion protoplasmique à divisions nucléaires nombreuses; *a* inclusion dans la cellule centrale d'un globe épidermique.

Figure 5. Coupe de masse pulpaire (de pustule de génisse): *a, a* desquamation cornée; *c, c* cellules cornées à paroi épaisse et commençant à prendre l'aspect de cellules végétales; *x* cellules végétales; *m, m* trainées de cellules en dégénérescence kératocolloïde; *de* cellule en dégénérescence aqueuse; *p, p* cellules en dégénérescence aqueuse à la périphérie et colloïde au centre; *po, po* blocs colloïdes, résidus cellulaires; *cel, cel* énormes masses plasmodiales à noyau vésiculeux; *s, s, s* plasmodies volumineux renfermant de nombreux corpuscules; *sto, sto* transformation des plasmodies en masses pseudokystiques; *ky, ky* cellules utriculaires pseudokystiques; *se, seb* cellules sébacées parasitées; *tra* trame intercellulaire; *mic* amas microbien.

Figure 6. Coupe de masse pulpaire de génisse: *a, a* desquamation lamelleuse; *b, b* cellules cornées; *c, c, c* cellules d'aspect végétal; *d, d* cellules en dégénérescence aqueuse; *m* cellule en dégénérescence colloïdo-cornée; *g* cellule multinucléée; *h, h, h* petites cavités vésiculaires dues à la destruction des parois de plusieurs cellules en dégénérescence aqueuse; *x* grande cellule à noyaux multiples, disposés en couronne, au centre; *cel* énorme cellule contenant un noyau vésiculeux multilobé (*no*) et un plasmode parasitaire (*ma*) à corpuscules nombreux (*cor*).

Figure 7. Pustule du poumon (adénome alvéolaire): *a, a, a* cavités alvéolaires à épithélium proliféré; *b* bourgeonnements papillaires de la prolifération épithéliale; *x* bourgeons extérieurs qui donnent naissance à de nouveaux tubes adénomateux; *c* formations épithéliales tubulées; *g, g, d* formations adéno-épithéliomateuses dissociant la trame conjonctive; *h* prolifération épithéliale en nappes; *bro* prolifération bronchique. Oc. 6 comp. Obj. B Zeiss.

Figure 8. Pustule du poumon. Adéno-épithéliome d'origine vaccinale: *a* prolifération bronchique en nappe; *x, x* la prolifération bronchique rompt la basale (*br*) et le tissu conjonctif pérbronchique (*bra*) et se confond avec la prolifération alvéolaire divisée par une trame conjonctive fine (*l, l*) en nappes étendues (*m, m*), ou en amas irréguliers avec ou sans lumière centrale (*h, h*), ou en petites formations de 3 à 4 grandes cellules claires (*p, p, p*); *va, va* vaisseaux sanguins à endothélium fortement hypertrophié; *g, g* nodule conjonctifs à grandes cellules; *d, d* cellules claires colossales.

Figure 9. Adéno-épithéliome du poumon: *a, a* cellules claires, (*b, b*) grandes cellules claires, (*c, c*) petites cellules sombres de la prolifération bronchique; *m, x* points de pénétration de l'épithélium bronchique dans la prolifération alvéolaire; *s* bourgeonnement à la périphérie d'une prolifération d'origine alvéolaire et qui donnera naissance à une nouvelle formation adénomateuse; *pl, t* prolifération desordonnée et atypique en placards; *am, am* prolifération desordonnée plus limitée; *alr* formations aciniformes; *v, v, v* vaisseaux à volumineuses cellules endothéliales, entouré de grandes cellules conjonctives (*m, m*); *co, co* foyers de cellules conjonctives hypertrophiées réunies par leurs prolongements.

Figure 10. Pustule pulmonaire; partie de prolifération perivascularaire: *ep, ep* prolifération épithéliale adénomateuse; *epo* tube adénomateux plein; *x* la prolifération épithéliale a rompu la basale (*co*) et se confond avec la prolifération conjonctive; *ab, ab* cellules conjonctives en hypertrophie colossale; *pr, pr* zone de prolifération périvasculaire très active (périvascularite); *en* cellules endothéliales très volumineuses et saillantes; *end* les cellules endothéliales obstruent la lumière du vaisseau; *d* cellule endothéliale en karyokinèse; *km* énorme cellule conjonctive périvasculaire en karyokinèse; *ky* karyokinèse de cellules conjonctives dans un foyer de prolifération conjonctive (*gh*); *k* cellule épithéliale en karyokinèse.

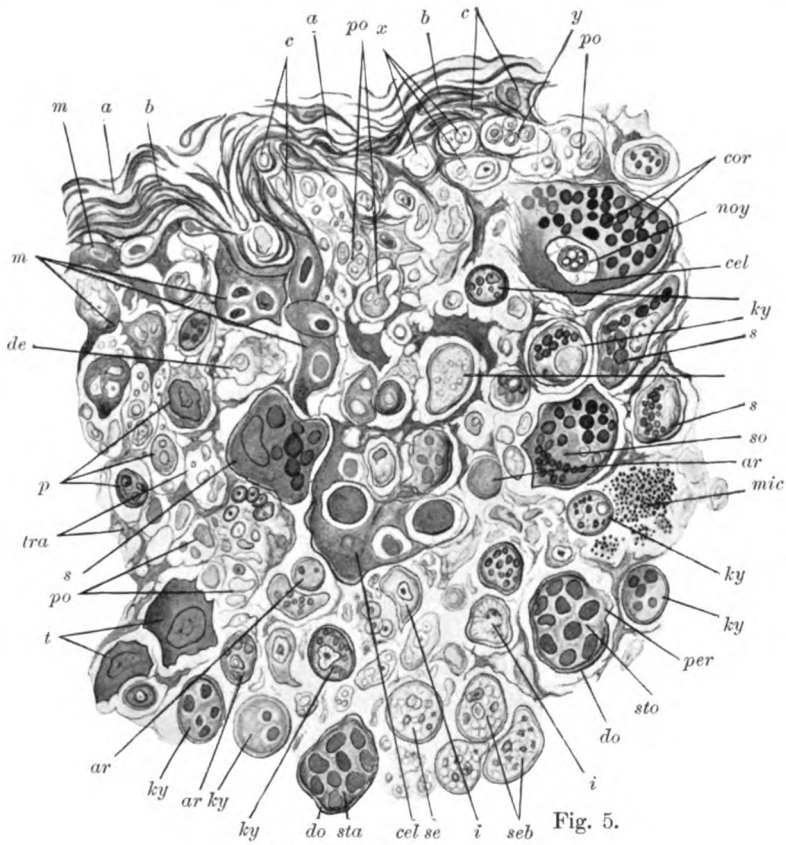
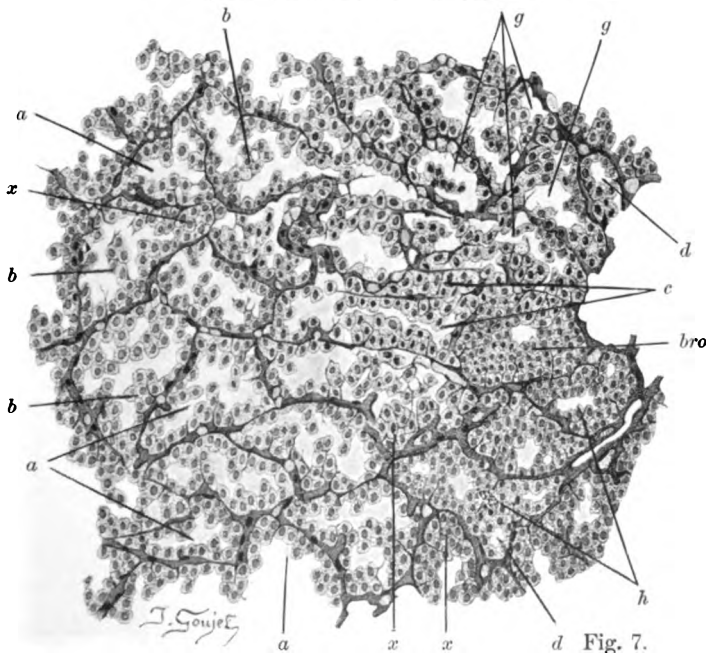
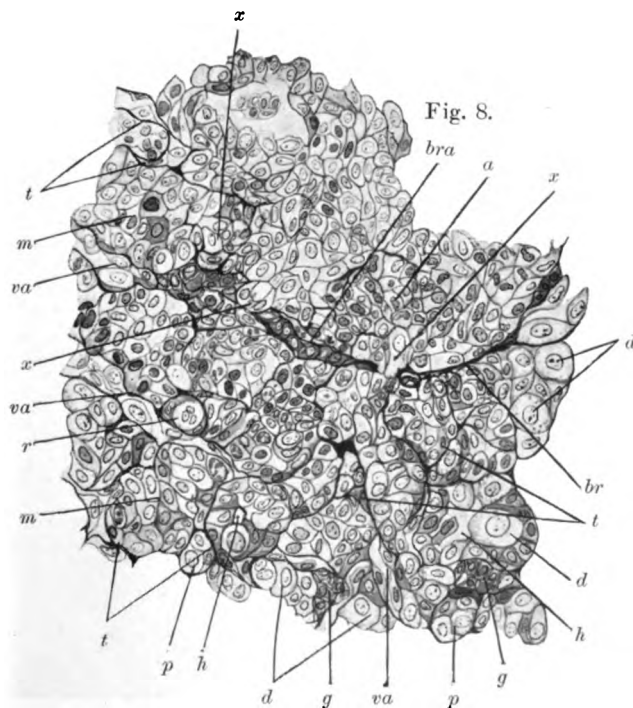
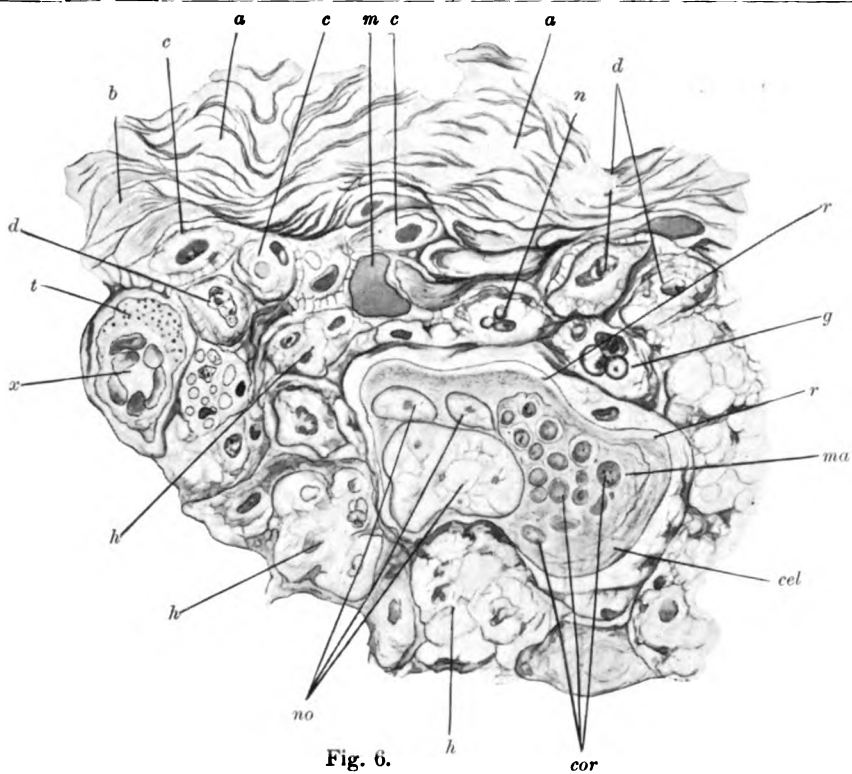


Fig. 5.



d Fig. 7.



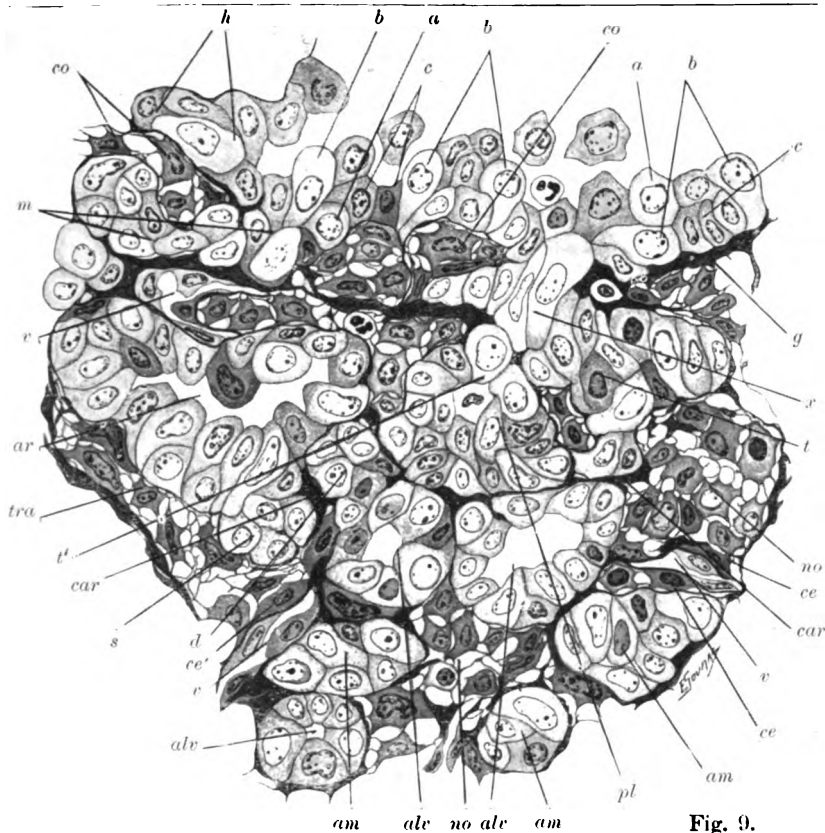


Fig. 9.

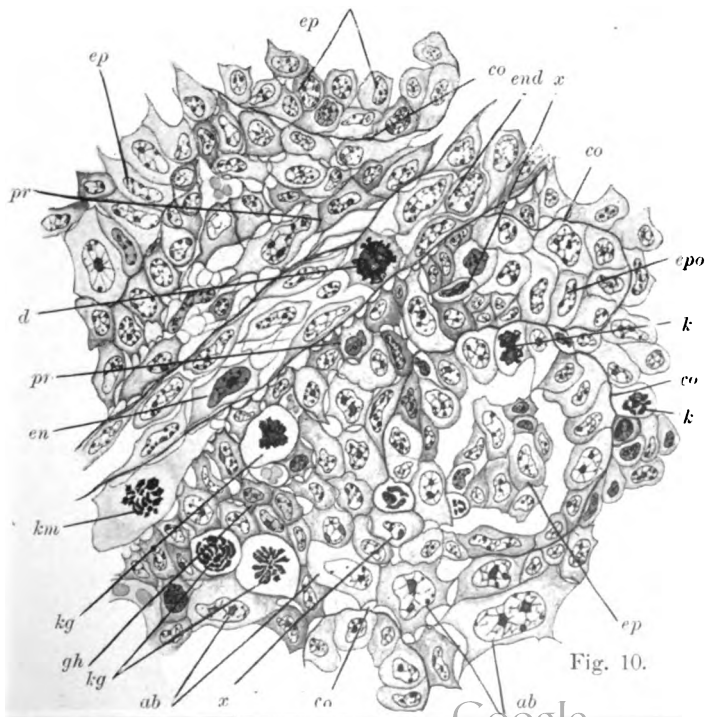


Fig. 10.

Cette facilité plus grande de produire l'immunisation du sang vient sans doute de ce que le milieu sanguin n'est pas favorable à la pullulation du virus. Les expériences, en particulier celles de Bécclere, Chambon et Ménard (40), ont montré que le sérum de génisse vaccinée est doué de propriétés préventives identiques à celles du sérum anticlaveleux et d'après Hlava, il aurait même des propriétés curatrices.

L'étude de la maladie vaccinale vraie est encore à édifier sur beaucoup de points et en se servant non d'animaux partiellement immunisés, mais d'un animal très sensible comme le poulain.

Histogénèse. La pustule d'inoculation et les pustules de généralisation présentent la même structure générale; les dernières doivent être plus petites à cause de l'action du virus sur un organisme déjà partiellement immunisé. Les caractères généraux de la lésion vaccinale sont ceux d'une hyperplasie cellulaire pure, karyokinétique, surtout épithéliale mais aussi conjonctivo-vasculaire, produisant des néoformations désordonnées qui constituent des néoplasies vraies. Les cellules de cette prolifération sont des cellules malades dont les lésions vont de l'hypertrophie à la dégénérescence totale. Nous avons montré le lien étroit qui existe entre ces lésions cellulaires et le développement du parasite qui y est contenu. Ce parasite produit d'abord des phénomènes d'hypernutrition (hypertrophie sombre, demi-claire, puis hypertrophie claire collosale), puis des phénomènes d'épuisement (plasmolyse et karyolyse progressive aboutissant à la dégénérescence aqueuse complète). Les cellules peuvent subir d'autres modifications comme une dégénérescence cornée, kerato-colloïde, keratohydropique, se présenter sous forme de plasmodies multinucléées, parfois énormes, ainsi que nous l'avons montré (figures 5 et 6), toujours sous l'action du parasite intranucléaire. La relation entre le parasite et les cellules permet d'expliquer la production des sphérules et des globes épidermiques, et de la même façon que dans la clavelée une cellule, au début de la prolifération, est parasitée plus rapidement que les voisines; elle augmente de volume, devient globuleuse et repousse, comprime les cellules voisines, qui prennent une forme en croissant et qui, troublées dans leur nutrition, subissent une dégénérescence kératique ou kerato-colloïde. Ces cellules subissent fatalement, de ce fait, une désorientation qui augmente avec l'hypertrophie progressive des cellules et la multiplicité des globes épidermiques. Les cellules conjonctives s'hypertrophient et dégèrent pouvant présenter aussi un grand volume et des noyaux multiples (cellules épithélioïdes et quelques cellules géantes).

La prolifération désordonnée de ces cellules malades fait disparaître les caractères normaux du tissu qui en est le point de départ; l'on a ainsi un épithélioma malpighien à globes épidermiques, un adénome ou un adéno-épithéliome du poumon, dans une trame conjonctive à vaisseaux atteints d'un processus très prononcé d'endopérivascularite.

La destruction complète de la cellule met en liberté le parasite vaccinal qui, à l'état nu, pénétrera dans les cellules voisines ou sera porté, par le sang, à la peau, au poumon, au foie et y fera proliférer les cellules propres de ces organes. Il n'y aura pas de métastases.

L'évolution générale de la pustule vaccinale est en rapport étroit avec l'évolution de la lésion cellulaire; elle comprend 4 périodes: une 1^{re} période d'induration ou d'édification, en rapport avec la pullulation active parallèle du virus et des cellules avec hypertrophie

progressive de ces dernières; une 2^e période de vésiculation ou de sécrétion qui correspond à la destruction des cellules centrales, c'est-à-dire les plus anciennes, tandis que la prolifération continue à la périphérie; une 3^e période de ramollissement avec arrêt de la progression périphérique et qui correspond au 6^e jour, c'est-à-dire au moment où l'immunité se produit; une 4^e période ou de regression caractérisée par la dégénérescence et l'élimination des cellules du foyer. La totalité de la néoformation épithéliale conjonctive s'élimine et un processus de cicatrisation aboutit à une cicatrice d'autant plus déprimée et gaufrée que le tissu dermique a été plus profondément ulcéré. On voit que ce processus est exactement celui que j'ai décrit pour le clavelée (52).

Quelle est la signification de la prolifération cellulaire qui forme la pustule? Nous avons vu que le début du développement parasitaire produit une excitation hypernutritive de la cellule-hôte c'est-à-dire la prolifération et l'hypertrophie, de sorte que l'action dégénérative se marque en allant des cellules les plus anciennes vers les plus jeunes; mais comme la prolifération est surtout très active au début, il se formera rapidement une tumeur dure dont le ramollissement central survient vers le 4^e jour et dont l'accroissement ne s'arrête qu'avec l'immunisation de l'organisme (6^e jour). L'on comprend dès lors que les cellules mobiles ne puissent avoir aucune action sur les parasites plus ou moins avancés dans leur développement et même sur ceux qui sont mis en liberté par la destruction cellulaire. Les parasites sont défendus par les rangées multiples des cellules jeunes et en hypernutrition de la prolifération périphérique, par la kératinisation de la périphérie cellulaire (globes épidermiques) et par la capsule hyaline qui les entoure.

En réalité, le processus cellulaire provoqué par les parasites n'apparaît pas seulement comme destiné à fournir un milieu nutritif aux parasites nouvellement formés, mais aussi et surtout comme une réaction défensive de l'économie: les cellules qui prolifèrent avec activité englobent les parasites au fur et à mesure de leur formation et jouent ainsi le rôle d'une véritable barrière défensive. Cette défensive cellulaire est aidée par une mononucléose qui apparaît surtout lorsque les parasites sortis des cellules dégénérées sont passés dans le courant circulatoire et l'une et l'autre ne cessent qu'avec l'apparition de l'immunité. Cette graduation dans les moyens de défense est une preuve du rôle défensif de la prolifération cellulaire.

A la période de regression, il se produit une polynucléose, moins nette que dans la clavelée, et qui constitue ce que j'ai appelé une „phagocytose de nettoyage“.

Quelle est la nature du processus vaccinal? L'action du parasite s'accompagne d'une hyperémie active, d'une réaction leucocytaire (mononucléose), de lésions vasculaires fortes et d'une regression des cellules néoformées. Ces caractères appartiennent à l'inflammation en général. Contre cette idée d'un processus inflammatoire paraissent s'élever les caractères histologiques de la lésion vaccinale: prolifération cellulaire pure, désordonnée, pénétrante, de type néoplasique. Mais nous savons que tout processus inflammatoire s'accompagne de phénomènes de prolifération cellulaire importants qui portent tantôt sur les cellules mobiles, tantôt sur les cellules mobiles et les cellules conjonctives fixes (granulomes). A mesure que la virulence directe de l'agent pathogène décroît, la prolifération des cellules fixes

prend une importance plus grande et un caractère néoplasique plus accentué (actinomycose, levûres). Quand on arrive aux parasites intracellulaires, comme les coccidies pathogènes, le processus inflammatoire se réduit presque complètement à la prolifération cellulaire et produit des néoplasies vraies qui trouvent leur expression la plus élevée dans le cancer.

La maladie vaccinale est donc une maladie inflammatoire de type néoplasique (bryocytose), à évolution rapide, en rapport avec la production de l'immunité vers le 6^e jour, et dûe au développement, d'abord localisé puis généralisé, d'un parasite vrai, intracellulaire, de la classe des Protozoaires, le *Plasmodium vaccinae*¹⁾

Index bibliographique.

- 1) Chauveau, C. R. 1868, 10 et 14 février.
- 2) Pfeiffer, C., Ein neuer Parasit des Pockenprozesses aus der Klasse Sporozoa. (Monatsh. f. prakt. Dermat. 1887. No. 10.)
- 3) Hervieux, Syphilis vaccinal. (Ac. méd. 1889.)
- 4) Pfeiffer, L., Die Protozoen als Krankheitserreger. Jena 1891.
- 5) Guarnieri, Ricerche sulle patogenesi ed etiologia dell'infezione vaccinica e vaiolosa. (Arch. p. le sc. mediche. T. XVI. 1892. No. 22.)
- 6) Podwysotski, Nouv. recherches sur les sporozoaires. (Centralbl. f. Bakt. 1893.)
- 7) Ferroni e Massari, Sulla pretesa scoperta del Guarnieri. (Riforma med. 1893. No. 126.)
- 8) Monti, Sui protozoi del vaiolo e del vaccino. (Soc. med. ch. di Pavia. 1893.)
- 9) Ruffer and Plimmer, Researches on variola and vaccinia. (Brit. m. J. Vol. I. 1894.)
- 10) Babes, XI Congresso med. int. Roma 1894. T. II. p. 134.
- 11) Pfeiffer, E., Ueber die Züchtung des Vaccinerregers in dem Corneaspithel des Kaninchens. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XVIII. 1895. p. 769.)
- 12) Clarke, The sporozoa of variola and vaccinia. (The Lancet Vol. I. 1898.)
- 13) Massanori Ogata, Ueber die Sporozoa der Vaccinlymphe. (Fac. med. Tokio. 1895.)
- 14) Pfeiffer, L., Die neueren seit 1887 vorgenommenen Versuche zur Reinzüchtung des Vaccinecontagium. (Zeitschr. f. Hyg. 1896. p. 306.)
- 15) Wasielewsky, Ueber die Form und Färbbarkeit der Zelleinschlüsse bei Vaccineimpfungen. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXI. 1896. p. 901.)
- 16) Vedeler, Vaccineprotozoen. (Mag. f. Laeger. 1896. No. 5.)
- 17) Kourloff, Des microorganismes du vaccin. (Arch. russes de Path. et de Bact. Oct. 1896.)
- 18) Salmon, Rech. sur l'infection dans la vaccine. (Ann. Inst. Pasteur. T. XI. 1897. p. 289.)
- 19) Guarnieri, Ulteriori ricerche sulla etiologia delle infezione vaccinica. (Clinica moderna. 1897.)
- 20) Reed, Walter, Corpuscles spéciaux dans le sang d'enfants vaccinés. (J. of rep. méd. 1897.)
- 21) London, Ueber die Körperchen von Guarnieri. (J. der russischen Gesellsch. 1898.)
- 22) Gorini, Il controllo del vaccino mediante la insc. corneale. (Arch. p. l. sc. med. 1898. p. 127.)
- 23) Bossalino, Intorno alle infezioni vacciniche della cornea. (Arch. p. l. sc. med. T. XXII. 1898. p. 273.)
- 24) Bosc, F. J. et Musso, Rech. sur le parasite de la vaccine. (C. R. Congrès de Montpellier. 1898.)
- 25) Musso, Rech. sur le parasite de la vaccine. [Thèse.] Montpellier 1898.
- 26) Kent, The virus vaccinia and its cultivation. (The Lancet. May 1898.)
- 27) Copeman, Natural history of vaccinia. (The Lancet. May 1898.)
- 28) Hückel, Die Vaccinekörperchen nach Untersuchungen an der geimpften Hornhaut des Kaninchens. (Zieglers Beitr. f. path. Anat. Supplement. 1898.)
- 29) Gorini, Sulle inclus. cellulari nell'innesto vaccin. della cornea. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVIII. p. 23.)

1) Nous choisissons cette dénomination de *Plasmodium* comme générique pour tous les parasites des maladies bryocytiques, à cause à la fois de la forme plasmodique de ces parasites et de l'ancienneté de son application.

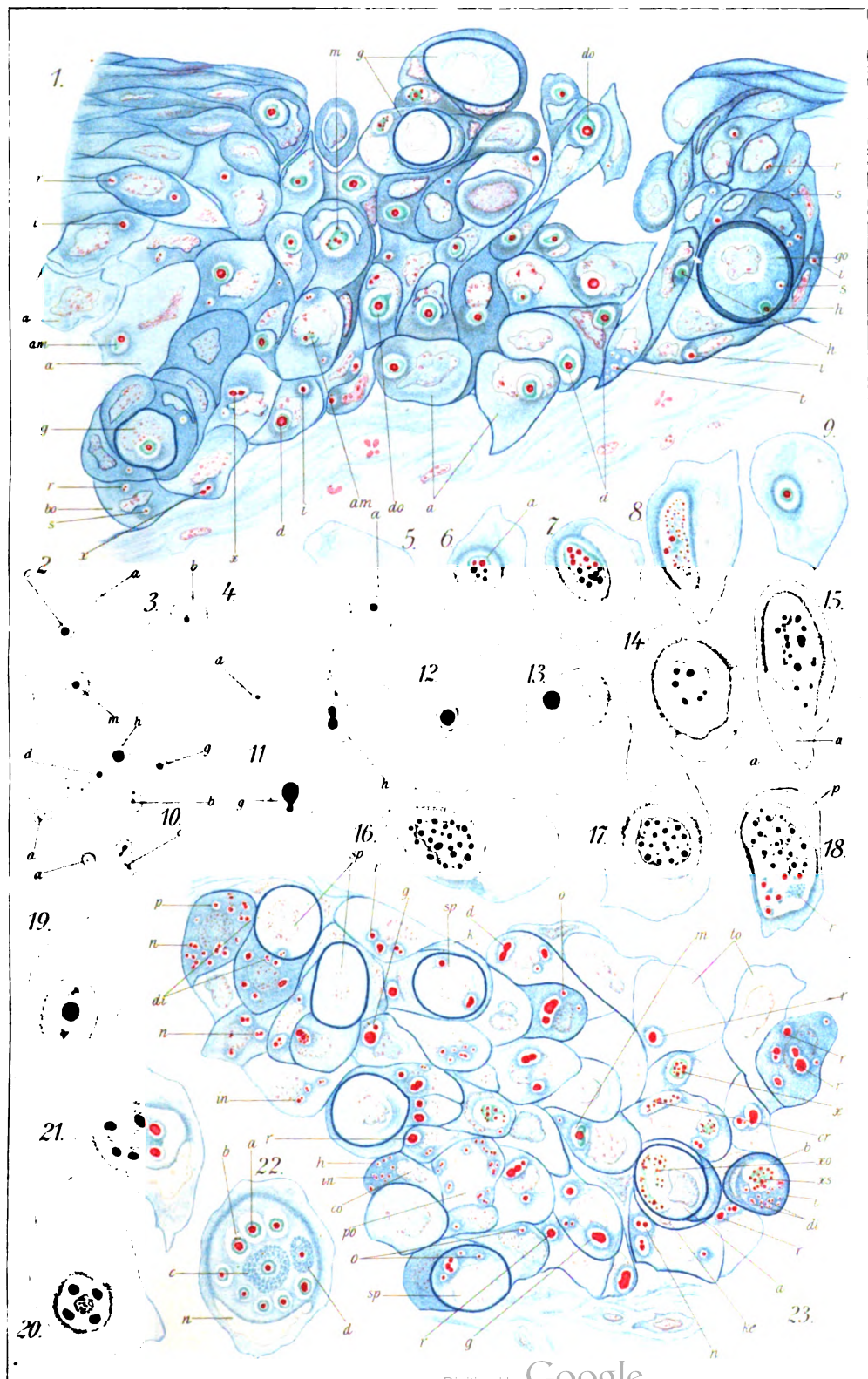
- 30) Enriquez et Sicard, Examens hématologiques dans la vaccine. (C. R. Soc. Biol. 1900. p. 1010.)
- 31) Nakanishi, *Bacillus variabilis lymphae vaccinalis*. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVII. 1900. p. 641.)
- 32) Roger et Weil, Vaccine chez le lapin. (C. R. Soc. Biol. nov. 1900.)
- 33) Podwyssotski-Mankowski, Deutsche med. Wochenschr. 1900. No. 17.
- 34) Bosc, F. J., Les maladies à sporozoaires. (Arch. méd. expér. 1901. Mai. No. 3.)
- 35) Gorini, Ueber die beiden Hornhautvaccineherde. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIX. 1901. p. 584.)
- 36) —, Ric. sul vaccino sperimentale. (Il policlinico. 1901. p. 883.)
- 37) Wasielewsky, Beitrag zur Kenntnis der Vaccineerreger. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVIII. 1901. p. 212.)
- 38) Calmette et Guérin, Rech. sur la vaccine expérimentale. (Ann. Inst. Pasteur. T. XV. 1901. p. 161.)
- 39) Dominici, Formule hémoleucocytaire de la vaccine. (C. R. Soc. Biol. 1901. p. 446.)
- 40) Bécclerc, Chambon et Ménard, Ann-Instit. Pasteur 1901.
- 41) Sjöbring, Nils, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVII. 1900. p. 129.
- 42) Bosc, F. J., Virulence du sang dans la clavelée. (C. R. Soc. Biol. 1 février 1902.)
- 43) —, Méthode de traitement préventif de la clavelée. Hém-immunisation; séro-clavelisation. (C. R. Soc. Biol. 26 avril 1902.)
- 44) —, Pustule claveléuse dure identique au chancre syphilitique. (C. R. Soc. Biol. 1903.)
- 45) Guarnieri, Studi sulla struttura et sullo sviluppo dei parassiti dell' infezione vaccinica. (Clinica moderna. T. VII. No. 34.)
- 46) Funck, Der Vaccine- und Variolaerreger. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIX. 1902. p. 921.)
- 47) Gorini, Ueber die bei den Hornhautvaccineherden. . . (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXI. 1902. No. 2.)
- 48) Ishigami, Ueber die Kultur der Vaccine. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXI. 1902. No. 15.)
- 49) Bosc, F. J., Lésions pulmonaires vaccinales. C. R. Soc. Biol. 1903.
- 50) —, Les Etapes du processus inflammatoire. Introduction générale à l'étude des maladies bryocytiques. (Presse méd. 14 janvier 1902.)
- 51) Foà, Anna, Studio sui cytoryctes vaccinae. (R. d. r. acad. dei lincei. Roma. T. XII. 1903. 3 fev.)
- 52) Sikorsky, De la nature des corpuscules de Guarnieri. (Arch. des Soc. Biologiques. T. IX. p. 461 (en russe).)
- 53) Bosc, F. J., Les épithéliomas parasitaires. La clavelée et l'épithélioma claveléux. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIV. 1903.)
- 54) —, Le parasite de la vaccine. (C. R. Soc. Biol. 17 oct. 1903.)
- 55) —, Le parasite de la variole. (C. R. Soc. Biol. oct. 1903.)
- 56) —, Recherches sur le parasite de la rage. 1903.
- 57) Casagrandi, Riforma medica 5 août 1903. p. 848.
- 58) Chaumier et Rehns, Notes expérimentales sur la vaccine. (C. R. soc. Biol. 14 mars 1903.)
- 59) Rehns, J., Quelques expériences sur la vaccine. (C. R. Soc. Biol. 14 mars 1903.)
- 60) Bosc, F. J., Nouvelles recherches sur le parasite de la clavelée. (C. R. Soc. Biol. 17 oct. 1903.)
- 61) Negri, Zur Aetiologie der Tollwut. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. 1903. p. 519.)
- 62) Bosc, F. J., Le parasite de la rage. (C. R. Soc. Biol. 1903.)
- 63) Foà, A., I cytoryctes vaccinae. (Archives de Parasitologie. 1 déc. 1903. p. 508.)
- 64) Gaylord, Fourth annual report. Cancer laboratory. 1903. p. 13.
- 65) Bosc, F. J., Caractères généraux des maladies bryocytiques. (C. R. Soc. Biol. 1903 et 1904.)

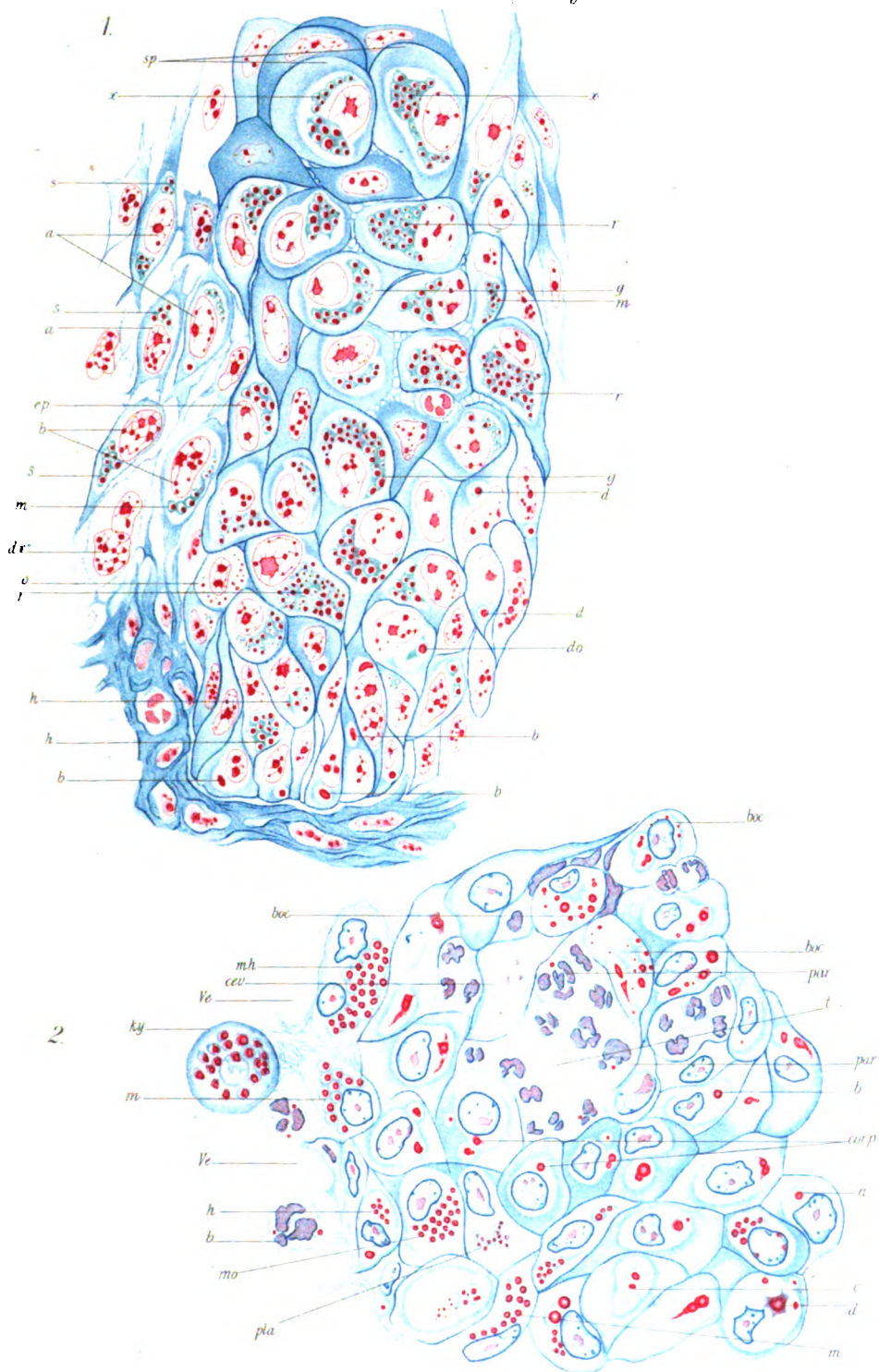
Légende des Planches.

Planche I.

Figure 1. — Coupe de cornée de lapin à la 48^e heure. Les parasites sont dispersés dans toute la prolifération de sorte qu'il n'y en a plus qu'un par cellule, en général.

Le foyer vaccinal présente une structure néoplasique très accentuée avec formation de globes épidermiques (*g, g, go*) et pénétration de bourgeons épithéliaux dans le chorion (*bo*); *go* globe épidermique parasité; *a, a, a* cellules en grande hypertrophie claire; *i* amas de formes petites dans une même cellule; *s, s, s* formes très fines orrondies; *r, r* formes diplococciques très fines; *i, i* formes cocciques volumineuses; *x, x* formes diplo-





cocciques volumineuses; *h*, *h* petites formes protoplasmiques nucléées *do*, *do* formes protoplasmiques nucléées plus volumineuses, d'aspect amiboïde.

Figures 2 à 8. — Développement de l'inclusion et division nucléaire aboutissant à la formation de corpuscules chromatiques très fins, en poussière.

Figures 10 à 18. — Evolution de formes à grosse masse chromatique, dont la division aboutit à la formation d'une morula typique (17) et de mérozoïtes pisciformes (18).

Figures 19 à 22. — Evolution de grandes formes de parasites à noyau très volumineux, vacuolé et dont la division en 4 puis en 6 et 10 parties aboutit à la formation de mérozoïtes assez volumineux autour de masses de reliquat (22).

Figure 23. — Coupe de pustule de la cornée 36 heures après l'inoculation: aspect néoplasique déjà net, avec cellules en hypertrophie claire et formation de sphérules épidermiques (*sp*, *sp*) et de globes (*a*).

x, *zo*, *xs*, *cr* formes d'origine au stade de division; *b* cellule renfermant une forme d'origine en morula (*xs*) et de nombreuses formes très fines (*di*); *po* cellule contenant un grand nombre d'inclusions très petites; *h* forme en chaînette; *p* cellule renfermant de nombreuses formes bactériennes assez volumineuses; *d* grosse forme diplococcique; *g*, *g*, *g* grosses formes en point d'exclamation, en gourde etc.

Pour toutes les figures de la pl. I, fixation par le Flemming fort, coloration par la safranine anilinée suivi de picro-indigo-carmin. Ocul. 6 compensateur, obj. immersion. $\frac{1}{16}$ Zeiss.

Planche II.

Figure 1. — Coupe de pustule cutanée du lapin; partie d'un bourgeonnement épithélial profond. A mesure que l'on va du bas vers le haut, le cellules augmentent, de volume (hypertrophie claire) et deviennent énormes pour constituer des sphérules épidermiques (*sp*); *b*, *b*, *b* formes bactériennes des inclusions; *d*, *do* formes protoplasmiques nucléées petites; *h*, *h* formes multinucléées; *g*, *g* formes plasmodiales en croissant; *r*, *r*, *r* énormes formes plasmodiales irrégulières; *x*, *x* formes plasmodiales étirées; *s*, *s* inclusions dans les cellules conjonctives (grandes cellules vaccinales); *dx* cellule conjonctive à 2 gros noyaux (cellule épithélioïde). (Fixation par le Flemming fort; coloration par la safranine anilinée et le picro-indigo-carmin. Ocul. 6 comp.; obj. à immers. Zeiss.)

Figure 2. — Partie de la pustule prise en un point où se fait la vésiculation: *ve*, *ve* grande vésicule; *ky* cellule vésiculeuse parasitée (épithéliale) libre dans la vésicule et simulant un kyste; *le* leucocyte parasité intravésiculaire; *mh* parasite volumineux remplissant presque complètement une cellule épithéliale à 2 noyaux devenue utriculaire; le protoplasme se condense autour des divisions nucléaires; *m*, *m*, *mo* formes parasitaires plasmodiales à condensation protoplasmique autour des noyaux; *d* forme parasitaire amiboïde à gros noyau; *c* forme amiboïde dont le noyau se divise en deux; *a* formes amiboïde de petite taille; *bac*, *bac* formes bactériennes; *t* petite cavité vésiculaire renfermant des leucocytes parasités (*par*, *par*). (Coloration par la méthode de Mann. Ocul. 6 comp.; obj. $\frac{1}{16}$ Zeiss.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Wege, auf denen das Wutvirus zu den Speicheldrüsen des Hundes gelangt.

[Hygienisches Institut der königl. Universität Turin.

Direktor: Prof. Dr. L. Pagliani.]

Von Dr. E. Bertarelli, Privatdozent.

Die Wege, auf denen das Wutvirus, von der Inokulationsstelle ausgehend, — Hautwunden bei spontaner Wut, Inneste in die verschiedenen Körperteile bei experimenteller Wut — sich weiterverbreitet und schließlich zu den Zentren gelangt, sind allgemein bekannt. Es ist ein besonderes Verdienst Di Vesteas und Zagaris, gezeigt zu haben, welche Rolle den Nerven bei dieser Diffusion zukommt, und wie die früher für die hauptsächlichsten Vermittler der Virusdiffusion im Innern des Organismus gehaltenen Lymph- und Blutwege nur sekundäre Bedeutung haben.

Ebenso ist es wohlbekannt, daß das Virus von den Zentren wieder hinabsteigen kann und dabei die Nervenäste infiziert, die, wenn auch nicht immer, so doch sehr häufig aktiv und virulent angetroffen werden. Bezüglich der Verbreitung des Virus in anderen Organen und Apparaten, die keine Nervenstämmen sind, haben wir viele, wenn auch nicht konstante Daten über die Gegenwart des Virus in einigen Drüsenorganen, zuweilen im Blute, in der Nebenniere etc. Wir besitzen keine direkten Angaben über den Weg, den das Virus einschlägt, um zu diesen Organen zu gelangen; induktionsweise läßt sich jedoch vermuten, daß die Passage durch die Nerven und weniger häufig durch die Blutgefäße stattfindet.

Nun ziehen unter allen diesen Organen, die sich in verschiedenen Momenten virulent erweisen können, die Speicheldrüsen ganz besonders unsere Aufmerksamkeit auf sich. Dies nicht allein, weil von ihnen die erste Verbreitungsursache der Wut ausgeht, sondern auch aus rein biologischen Gründen. Einer derselben besteht vor allem in der sonderbaren Feststellung, daß die Speicheldrüsen und der Speichel einiger Tiere, und besonders des Menschen, niemals oder fast niemals wutinfiziert vorgefunden werden, während die Speicheldrüsen in anderen Tiervarietäten konstant virulent sind. Außerdem erregen die Probleme, die mit Infektionsfähigkeit, dem Zustandekommen derselben und dem Verbreitungsweg des Wutvirus in den Drüsen in Verbindung stehen, weit höheres Interesse, nachdem das Auffinden eines eventuellen Elements in den Speicheldrüsen¹⁾, das an einen Parasiten erinnern könnte, mißglückt ist, während die morphologischen Befunde im Zentralnervensystem sehr ergiebige Resultate geliefert haben.

Deshalb habe ich seit dem vergangenen Jahre meine besondere Aufmerksamkeit den Speicheldrüsen wutkranker Tiere zugewandt, in der Hoffnung, ein Argument zu finden, das im Stande wäre, das Dunkel zu lichten, das diesen Teil der Pathologie noch umgibt. Die erste mir zur Lösung gesetzte Frage war die nach den Wegen, auf welchen das Virus von den Nervenzentren zu den Speicheldrüsen gelangt. Suchen wir in der Spezialliteratur nach Angaben oder blättern wir die alles zusammentragenden Werke von Högyes²⁾, Casper³⁾, Sime⁴⁾ über die Wut durch, so finden wir nicht die geringste Angabe über die Art und Weise, auf welche das Virus von den Zentren zu den Drüsen kommt. Högyes sagt in dem die Verbreitung des Virus von dem Infektionssitze aus behandelnden Kapitel allerdings, daß es logisch sei, daß das Virus durch die Nerven oder die Blutbahn zu den Drüsen gelangt, und man, abgesehen von diesen zwei Wegen und dem der Drüsen, schwerlich an andere denken könne.

Wenn nun auf allen diesen Wegen das Virus mit Leichtigkeit vordringen kann, wie kommt es dann, daß bei einigen Tieren die Drüsen niemals Virus enthalten? Um also in diese Frage weiter einzutreten, ist es vor allem nötig, experimentell festzustellen, welchen Weg es tatsächlich einschlägt, um zu den Drüsen zu gelangen, ob es einen be-

1) Negri sagt in seinem ersten Bericht, daß es ihm nicht gelungen sei, etwas besonderes zu beobachten, das zum Gedanken an einen Parasiten in den Speicheldrüsen berechtigte. Auch in diesem Institute sind einige in diesem Sinne vorgenommene Versuche negativ ausgefallen.

2) Högyes, A., Lyssa. (Spez. Pathologie und Therapie von Nothnagel. Wien 1897.)

3) Casper, Pathologie der Tollwut. (Ergebn. d. allgem. Pathol. von Lubarsch und Ostertag. Wiesbaden 1902.)

4) Sime, D., Rabies. Cambridge 1903.

liebigen der drei Wege durchlaufen kann, oder ob sein Weg zu den Drüsen notwendigerweise an die Nervenbahn gebunden ist, deren besondere Bedeutung von den italienischen Forschern und ganz besonders von Di Vestea und Zagari hervorgehoben wurde.

Auf die Lösung dieser Frage beziehen sich die nachstehend kurz zusammengefaßten Untersuchungen.

Für derartige Versuche mußte nun mit solchen Tieren operiert werden, die Speicheldrüsen hatten, die auch wutkrank werden konnten, d. h. mit dem Hunde, der das geeignetste solcher Tiere ist¹⁾. Zur Erleichterung der Operation wählte ich mittelgroße, junge und gesunde Tiere.

Damit nun dem Nachstehenden gefolgt werden könne, halte ich es hier angezeigt, einige wenige anatomische Angaben über die Speicheldrüsen des Hundes, besonders bezüglich ihrer Innervation, zu machen.

Die Parotis ist beim Hunde ziemlich klein und unregelmäßig geformt. Teilweise bedeckt sie die tiefer liegende Unterkieferdrüse. An ihrer Außenseite verlaufen kleine Wurzeln des Nervus auricularis magnus; in der Medianschicht der Nervus facialis und an der Innenseite der Nervus subcutaneus colli medius. Der Stenzonsche Gang liegt ziemlich nahe am ovalen Rande des Nervus mesentericus.

Leicht ist es, diese Drüse von kleinen accessorigen Parotiden begleitet zu finden. Die Glandula submaxillaris ist beim Hunde stark und von einer resistenten Kapsel deutlich isoliert. Der Wartonsche Gang geht von der Mittelseite aus und ist nicht schwer zugänglich im ersten Teil gegen die Drüse zu, bevor er sich an die Seitenfläche des Nervus trigeminus anlegt.

Die Glandula sublingualis ist eine lange, wenig regelmäßige Drüse und liegt an der Oralseite der Submaxillaris und etwas darüber.

Die Innervation der einzelnen Drüsen ist gegeben

I. für die Parotis durch die Parotidennerven des N. auricularis temporalis und des N. zygomaticus temporalis;

II. für die Unterkieferdrüse durch die Corda timpani, die bei dem Wartonschen Gang in die Drüse eindringt. Sie hat zuweilen 2—3 Wurzeln, ist deutlich sichtbar und bei einiger Praxis leicht isolierbar. — Die Unterkieferdrüse erhält außerdem noch kleine Filamente des sympathicus.

III. Die Unterzungendrüse erhält verschiedene kleine Nerven des N. lingualis und Zweige des Sympathicus.

Das Virus könnte auf dem Lymph-, Blut- und Nervenwege zu den Drüsen gelangen. Nehmen wir vorerst von dem Lymphwege Abstand, so bleiben die in zitierten Lehrbüchern behandelten Wege, d. h. die Nerven- und Blutbahn.

Um ausfindig zu machen, welcher von diesen beiden die Wut übermittelt, war es logisch, in nachbeschriebener Weise vorzugehen, d. h. eine oder mehrere Speicheldrüsen einer Seite zu isolieren, die Nervenbahn zu unterbrechen und die Blutbahn zu erhalten, dem Tiere subdural Wutvirus zu inokulieren, es bei deutlichen Wutsymptomen zu töten, vorsichtig die operierte oder operierten Drüsen aufzunehmen und ebenso die der nicht operierten Seite, Kaninchen zu innestieren und nachzusuchen, welche von den Drüsen im stande sind, die Wut zu erzeugen.

1) Die im Jahre 1903 begonnenen Versuche wurden dank dem freundl. Interesse des Prof. Dr. Perroncito fortgesetzt, welcher die dem Operieren an wutkranken Hunden sich entgegenstellenden Schwierigkeiten dadurch aus der Welt schaffte, daß er mir vom Oktober 1903 an sein besonderes Lokal und die Käfige für wutkranke Hunde in seinem Institute in der Scuola Veterinaria zur Verfügung stellte. Für den ganzen operativen Teil leistete mir mein Kollege Dr. Volpino freundliche und wertvolle Hilfe, wofür ich ihm hier danke.

Wurde damit dann irgend ein beachtenswertes Resultat erhalten, so war es opportun, das Experiment bei Unterbrechung der Blutbahn und Erhaltung der Nervenbahn zu wiederholen und nachzuforschen, ob die Drüse unter solchen Umständen sich infiziert erwies oder nicht.

Auf eine solche Anordnung wurden unsere Versuche gestützt. Das Schwierige dabei war jedoch unter Verhältnissen zu operieren, die die leichten Fehlerquellen auszuschalten vermochten. Eben deshalb mußten wir darauf verzichten, an der Parotis und der G. sublingualis zu operieren und wandten uns ausschließlich der Unterkieferdrüse zu. Diese ist groß genug, um sorgfältig isoliert werden zu können, dann ist sie ganz zu entkapseln, und schließlich ist es leicht, den Operationsakt bei der Isolierung auf eine einfache Loslösung des nervo-vaskulären Bündels zu beschränken, das in den Hilus der Drüse eindringt. Einmal operiert, kann man die die Drüse umhüllende fibröse Kapsel gut schließen und so die Drüse in situ zurückbringen, ohne daß man zu befürchten hat, daß sich Verbindungswege herstellen mit den benachbarten Geweben und besonders mit den anderen Speicheldrüsen.

Damit nun der operative Eingriff gelinge, darf das Tier nicht zu klein sein, denn sonst läßt sich die Drüse nur schwer enukleieren, und überdies fällt es in diesem Falle zu schwer, die Gefäße und die Nerven zu isolieren, ohne schließlich, ohne es zu wollen, den kleinen Nervenstamm der Corda tympani zu zerreißen. Auch die zu großen Hunde bieten kein gutes Operationsfeld wegen der Weite der oberflächlichen Venengefäße, die sehr leicht zu Hämorrhagieen führen, die dann jedenfalls die scharfe Loslösung des nervo-vaskulären Bündels der darunter liegenden Drüse unmöglich machen. Mit 5—7 kg schweren Hunden kann man unter guten Verhältnissen operieren.

Natürlich verletzt man oft schließlich trotz größter Sorgfalt den Nerv oder die Gefäße, die man retten wollte. Zuweilen auch hielt die bewirkte Wunde nicht gut, und da versteht man, wie der Hund sich beim Lecken die Wunde infizieren kann und zwar ganz unabhängig von dem eigentlichen Infektionsprozeß im Innern der Drüse. Schließt man alle Fälle aus, bei denen entweder Operationsfehler nicht gestatten, irgend welches Urteil zu geben, oder die Bildung von fistulösen Passagen es verbieten, einen Schluß über den Gang der Wutinfektion in der Drüse vom Oktober 1903 bis April 1904 zu ziehen, so bleiben mir 5 Fälle mit einem vom operativen Standpunkte vollständigen Resultat; sie erlauben einen ganz sicheren Schluß hinsichtlich der mir gestellten Frage zu ziehen.

1) Das Wutvirus gelangt nicht auf der Blutbahn zu der Unterkieferdrüse.

Vor allem mußte man zusehen, ob das Virus trotz Unterbrechung der Nervenbahn doch bei der Unterkieferdrüse anlangen konnte. Bei drei Hunden (die einzigen, bei denen die gut gelungene Operation Garantie leistete für den Wert des Experiments) war das Resultat immer übereinstimmend.

I. Probe.

Hündin, weiß, Kreuzung von Spitz und Hofhund, Gewicht 5,800 kg.

Am 16. Nov. 1903 wird unter frdl. Mitwirkung des Kollegen Dr. Volpino unter allen aseptischen Vorsichtsmaßregeln die rechte Submaxillaris isoliert. Man gelangt leicht ohne Blutung zur Drüsenkapsel; man öffnet die Hülle und trennt langsam den schwachen Zusammenhang zwischen Drüse und Kapsel. Gegen die Mittelseite zu begegnet man zwei kleinen Nervenwurzeln — als solche beim nachfolgenden mikroskopischen Examen erkannt — die man losreißt und deren zurückbleibenden Stücke abgetragen werden. Ist dann der

nervo-vaskuläre Stiel freigelegt, so löst man mit gekrümmten Pinzetten das ganze Bündel los, schneidet das Nervenfilament durch und auch den Wartonschen Gang und trägt beide ab. Dann setzt man die Loslösung des Stieles mit aller Sorgfalt fort, solange bis die Drüsenarterie zusammen mit einer der entsprechenden Venen vollständig freiliegt. Man inspiziert die Teile aufmerksam auf ihre Durchsichtigkeit hin und dann mit einer stumpfen Nadel, bis man die volle Gewißheit erhält, daß außer den zwei Gefäßen nichts geblieben ist. Man reinigt den Teil mit Sorgfalt, bringt die Glandula in situ zurück und vernäht die Kapsel mit dichter kurzer Naht. Es werden auch einige mehr oberflächliche Stiche gegeben, um den Verschuß der Kapsel zu garantieren und das Operationsfeld gut getrocknet, dann vernäht man die Haut. Die Wunde wird mit einer dicken Schicht Baumwolle und Collodium bedeckt. Darnach wird der Hund sogleich trepaniert und ihm subdural Passagewutvirus inokuliert. — Man verifiziert unter dem Mikroskop die Natur der ausgeschnittenen Strecken des Drüsenstiels.

Am 28. Nov. gibt der Hund deutliche Wutsymptome. Er wird mit einer Kugel durchs Herz getötet. Sorgfältig wird nun die rechte Glandula submaxillaris aufgenommen. Die Wunde ist in gutem Zustande; die Haut auf dem Wege der Vernärbung; die Kapsel fest geschlossen; die Drüse etwas blaß, aber ohne Verletzungen. Man wäscht sie rasch in physiologischer Lösung, zerknetet sie fein zu einer dicken Emulsion, die man 2 Kaninchen inestiert, dem einen in den N. ischiadicus, dem anderen unter die Dura.

Man nimmt dann auch die nicht operierte maxillaris zur Linken aus, wäscht sie, zerknetet sie und inestiert sie analog in 2 Kaninchen. Weiterhin fixiert man das Ammonshorn des Hundes in Osminsäure und prüft es 24 Stunden nachher. Deutliches Vorhandensein der Negrischen Körperchen; die Wutdiagnose ist damit also gesichert.

Die zwei mit der operierten Drüse inokulierten Kaninchen (Ausschnitt der Nerven, Erhaltung der Blutbahn) sind nach 3-monatlicher Beobachtung gesund. Die zwei mit der entsprechenden nicht operierten Drüse inestierten Kaninchen verenden an Wutkrankheit am 17. Dez. 1903 resp. am 24. Dez. 1903.

II. Probe.

Hündin, roter Spitz, 6,500 kg.

Am 4. Jan. 1904 wird die linke Gl. submaxillaris isoliert und zwar wie vorher schon angegeben. Man löst den Stiel los und schont nur die Arterie und eine große korrespondierende Vene. Die Drüse wird verletzt, indem man sie ein Stück weit einschneidet. Man vernäht wie bei Probe I. Man inokuliert dem Hunde subdural Passagewutvirus.

Am 25. Jan. liegt der Hund in tiefer rasender Wut. — Er wird getötet. Sofort werden die 2 Drüsen aufgenommen, gewaschen, zerknetet und separat in 4 Kaninchen inokuliert.

Die beiden mit der nicht operierten Drüse inokulierten Kaninchen sterben an Wut am 14. Febr. resp. am 16. Febr. 1904. Die mit der operierten Drüse inestierten Tiere überleben die Inokulation.

Die Prüfung auf Negrische Körperchen erweist den Hund als sicherlich wutinfiziert.

III. Probe.

Hund, Männchen, Bastard, 6,200 kg.

Am 19. Jan. 1904 isoliert man die linke Gl. submaxillaris, schneidet alle Wege durch mit Ausnahme der Arterie und zwei kleiner Venen des Stiels. Beim Eingriff kleine Blutung infolge der Verletzung einer sich nicht am Hilus in die Drüse erstreckenden Vene. Die Kapsel wird gut gereinigt und genäht in angegebener Weise. Subdurale Injektion von Passagewutvirus.

Am 15. Febr. 1904 weist der Hund die ersten Wutsymptome auf; er wird getötet. Histologischer Befund: (Negrische Körperchen) Wut.

Es werden die beiden Gl. submaxillaris aufgenommen. Von den zwei mit der nicht operierten Drüse inokulierten Tieren stirbt eines während des Versuchs nicht an Wut am 7. Tage, das andere an Wut nach 18 Tagen.

Von den zwei mit der operierten Drüse inokulierten Kaninchen stirbt eines am 12. Tage ohne Wutsymptome, ebenso schließt die Passage in ein drittes Kaninchen mögliche Wut aus. Das andere Kaninchen bleibt am Leben.

Die drei Proben sind demnach sehr konkludent. Ueber die Blutbahn ist das Wutvirus nicht in die Gl. submaxillaris gelangt (wenn die Nervenbahn unterbrochen war), während die korrespondierenden Drüsen der nicht operierten Seite, bei denen die Nervenbahn unverletzt war, stets infizierend waren.

Infolge einer sehr logischen Analogie kann man leicht daran denken, daß auch in den anderen Speicheldrüsen ein identischer Vorgang wahrgenommen werden könne, wonach also der erste daraus abzuleitende Schluß besagt, daß das Virus nicht allein durch die Blutbahn bei den Speicheldrüsen anzugelangen scheint.

2) Das Wutvirus erreicht die Gl. submaxillaris auf der Nervenbahn, auch wenn die Blutbahn unterbrochen ist.

Die Gegenprobe der gegebenen Versuche wurde so ausgeführt, daß man beobachtete, ob bei Erhaltung der Nervenwege oder einer der Nervenwege und bei gleichzeitiger Unterbrechung der Blutbahn die Drüse sich ebenfalls infiziert erwies. Unwichtig ist es, ob die Drüse sich dann atrophisch zeigt (eine übrigens nur beginnende Atrophie, wenn man die kurze Zeit ins Auge faßt, während der der Hund dem Experiment untersteht), da die Funktionslosigkeit der Drüse vermutlich, wenigstens soviel wir wissen, nicht in enger Beziehung mit der Diffusion des Wutvirus im Drüsengewebe sein muß.

In jedem Falle ist eine solche Gegenprobe unerlässlich, um ausschließen zu können, daß die Infektionslosigkeit der Drüse in den gegebenen Proben nicht eben der Unterbrechung der Nervenbahn, sondern dem operatorischen Trauma und der konsekutiven Funktionsstörung der Drüse zugeschrieben werden müsse.

Das operative Vorgehen ist in diesem Falle schwierig. Mit knapper Not nur gelingt es zu verhindern, daß bei Loslösung des Stielbündels die Filamente und das Nervenfilament der Corda tympani zerrissen werden. Das Gewicht selbst und die unvermeidliche Zerrung der Drüse im Moment der Gefäßunterbindung bewirken schließlich fast immer das Abreißen des Nervs, auch wenn es mit vieler Vorsicht geglückt sein sollte, ihn gut zu isolieren.

Die Ueberzeugung dann, daß die Nervenbahn wirklich unverletzt war, wurde niemals aus dem operativen Eingriffe selbst abgeleitet, sondern aus der makro- und mikroskopischen, nach dem Tode des Tieres vorgenommenen Bestimmung. Uebrigens habe ich den Zustand des Stieles stets von anderen, speziell von Dr. Volpino prüfen lassen, um mich so noch mehr zu versichern, daß die Nervenbahn unverletzt, die anderen Bahnen dagegen verletzt waren.

Die Proben, bei denen die Operation keinen Zweifel ließ, beschränken sich auf zwei. Wer der Schwierigkeiten gedenkt, die sich dem operativen Verfahren entgegenstellen, wird diese Zahl auch nicht gering finden.

I. Probe.

Schwarzer Hund, Männchen, Bastard, 6 kg Gewicht. Am 5. April 1904 nimmt man mit aller Vorsicht die Isolation der linken Gl. submaxillaris vor, entkapselt die ganze Drüse und schneidet jede Verbindung mit den Wänden durch. Am Hilus begegnet man einem relativ ansehnlichen Nervenfilament, welches in zwei kleinen Aesten in die Drüse eindringt; um den übrigen Teil des Bündels (Venen, Arterien und Gänge) werden zwei Schlingen geworfen und dann das Bündel selbst ausgeschnitten. Die Drüse wird unter Vermeidung jeden Zuges auf das Nervenfilament vorsichtig in situ gebracht, nachdem sie vorher etwas gehoben worden war; dann wird genäht und subdural Passagevirus injiziert.

Am 19. April 1904 verendet der Hund unter starken Wutsymptomen. Das Ammonshorn ergibt Negrische Körperchen; der äußersten Vorsicht halber wird ein Kaninchen injiziert, das am 2. Mai an Wut stirbt.

Man nimmt die nicht operierte Gl. submaxillaris dextra auf, wäscht sie, zerknetet sie und inokuliert das resultierende Material in 2 Kaninchen. Beide verenden an Wut am 3. Mai 1904.

Es wird dann auch die Gl. submaxillaris sinistra aufgenommen. Die Wunde ist in ausgezeichnetem Zustande. Man öffnet die Kapsel und es gelingt bei delikatem Vorgehen die Nervenäste, wenn unverletzt, zu erkennen. Die Drüse ist blaß, klein, bietet jedoch, abgesehen von der Atrophie, keine schweren Verletzungen dar, die einer mangelhaften Asepsis zugeschrieben werden können. Nun wäscht man, zerknetet und inokuliert 2 Kaninchen. Beide sterben am 3. Mai 1904 an Wut.

II. Probe.

Hündin, Spitz, 7 kg Gewicht. Am 19. März wird die Gl. submaxillaris sinistra wie oben beschrieben isoliert. Der Nerv wird bloßgelegt und das ganze übrige Stielbündel unterbunden und durchschnitten. Hierauf injiziert man dem Hunde Wutvirus.

Am 7. April weist der Hund Wutsymptome auf, worauf er getötet wird. Die histologische und später auch biologische Diagnose bestätigen, daß das Tier wutkrank ist.

Mit der nicht operierten Drüse werden 2 Kaninchen inokuliert. Eines stirbt während des Versuchs an Pulmonitis, das andere an Wut am 26. April.

Die operierte Drüse ist atrophisch, der Nerv erweist sich ganz. Von zwei inestierten Kaninchen verendet eines an Wut am 24. April 1904, das andere am 26. April 1904.

Es zeugen also diese zwei sehr stichhaltige Proben absolut zu Gunsten der Tatsache, daß die Passage des Virus der Nervenbahn entlang stattfindet, auch wenn die Gefäße verletzt sind. Der Versuch ist desto beweisender, wenn man sich vergegenwärtigt, daß ich nicht darum besorgt war, alle Nervenbahnen intakt zu erhalten, sondern mich, durch die Technik gezwungen, damit begnügte, sicher zu sein, daß wenigstens eine Nervenbahn — selbstverständlich die scheinbar ansehnlichere — intakt blieb.

Die Gesamtheit der Versuche besagt somit, daß die Passage des Virus nach der Gl. submaxillaris und vermutlich entsprechend auch nach den anderen Speicheldrüsen über die Nervenbahn und ausschließlich über die Nervenbahn stattfindet. Wenn es aus der notwendigerweise nicht sehr großen Anzahl von Versuchen erlaubt ist, eine absolute Tatsache abzuleiten, so könnte man doch zu dem Schlusse kommen, daß das Virus niemals auf der Blutbahn zu der Drüse gelangt. Wenn nun aber auch Abweichungen vorkommen sollten, was übrigens unwahrscheinlich ist, so würden diese doch nur wirklich ganz außergewöhnliche Fälle sein.

Bezüglich des lymphatischen Weges scheint man auch etwas aus gegebenen Versuchen schließen zu können und zwar, daß das Virus diese Straße nicht einschlägt, wenn man nicht etwa unter Lymphbahnen auch die perineuralen Lymphräume verstehen will, die man natürlich nicht von dem Nerv trennen kann.

Es bleibt hiermit nachgewiesen, daß die (wenigstens mit größter Wahrscheinlichkeit) einzige Diffusionsstraße des Wutvirus nach den Speicheldrüsen zu die Nervenbahn ist. Damit wird dann auch die Bedeutung anerkannt, die auch für die zentrifuge Diffusion des Virus dem peripheren Nervensystem von Di Vestea und Zagari gegeben worden ist.

Man kann also beim Studium der etappenweisen Diffusion des Virus gegen die Drüse zu heute als Ausgangspunkt die Tatsache nehmen,

daß der einzige Weg, auf dem das Virus zur Drüse gelangen kann, der Nervenweg ist.

Im Laufe dieser Untersuchungen hatte ich Gelegenheit, auf eine schon in dem von mir und Volpino publizierten „I. Bericht über die Wut“ berührte Frage zurückzukommen. Es war uns nämlich nicht gelungen, die Wut auf den Hund zu übertragen, wenn wir das Virus direkt in die Gl. submaxillaris inokulierten.

Wir haben sogar in unserem Bericht den Zweifel erhoben, ob diese sicherlich sonderbare Tatsache nicht für ein spezielles Moment des Zyklus des Parasiten in der Drüse selbst spräche.

Denn wenn das auf der Nervenbahn vordringende Virus die Drüse infiziert, so verhält sich schließlich das Drüsengewebe bezüglich seiner Infektionsfähigkeit zum Nervengewebe wie ein homologes Gewebe und man versteht also nicht leicht, warum bei Injizierung des Virus in die Drüse das Virus nicht in den Nerven hinaufsteigen soll, wodurch dann die Wut des Tieres bewirkt würde.

Es muß jedoch hinzugefügt werden, daß diese Tatsache nicht konstant ist, da Celli auf dem Pathologischen Kongreß im Oktober 1903 mitgeteilt hat, daß es ihm gelungen ist, auf diesem Wege den Hund wutkrank zu machen.

Ich habe seitdem noch 4mal den Versuch wiederholt und dafür Sorge getragen, jede Fehlerquelle zu vermeiden. Deshalb öffnete ich die Kapsel der Gl. submaxillaris und eine weniger offen liegende kleine Strecke des Drüsenparenchyms, steckte eine sehr feine Nadel hinein und führte eine kleine Quantität einer dichten Passagevirus-Emulsion ein. Vor allem aber verhinderte ich, daß Teilchen des Innestmaterials sich in der zwecks Zugangs zur Drüse gemachten Wunde verlor. Dann vernähte ich die Kapsel und die Haut und hielt den Hund in Beobachtung.

Am 16. Nov. 1903 operierte ich so einen 1. Hund, der gesund blieb und dann getötet wurde.

Am 18. Januar 1904 histologische und biologische Diagnose negativ.

Am 4. Dez. 1903 und dann am 24. Januar 1904 und schließlich am 28. Januar wiederholte ich die Probe mit absolut negativem Resultat¹⁾.

Man muß zugeben, daß diese Resultate sonderbar konstant sind. Sie bringen mich dahin, die gegenteiligen stark anzuzweifeln, die man wahrscheinlich dem Umstande zuschreiben muß, daß einige Tropfen des Virus vom umliegenden Gewebe absorbiert wurden, oder daß die Inokulation in zu großer Nähe des Innervation der Drüse übernehmenden Nerven vorgenommen wurde.

Verschiedene Erklärungen kann man für diese Tatsache geben, doch will ich deren nur eine vorbringen. Könnte es nicht der Fall sein, daß der Speichel (und also auch die funktionellen Elemente der Drüsen) konträre und dem Wutvirus schädliche Eigenschaften besitzen? Wenn dies wirklich sich so verhielte, könnte dann nicht vielleicht die Tatsache, daß bei einigen Tieren der Speichel und die Speicheldrüsen sich niemals wutinfiziert erweisen, in Verbindung gebracht werden mit einem hohen antirabiden Vermögen?

1) Eine weitere Prüfung wurde an einem gesunden Hunde ausgeführt, in dessen Gl. submaxillaris ich einen Teil der fein zerriebenen Speicheldrüse eines anderen wutkranken Hundes inokulierte, jedoch ebenfalls mit negativem Resultat.

Ich bin mir wohl bewußt, daß mir leicht entgegnet werden kann, daß beim Hunde eine solche Vermutung sich nur schwer mit der Tatsache versöhnt, daß der Speichel sich effektiv virulent und infizierend zeigen kann. Außerdem weiß man aber auch, daß beim Hunde das Virus nicht kontinuierlich ausgestoßen wird, und da kann es dann auch sein, daß sobald die Passage bedeutender Virusquantitäten durch die Nervenbasen stattfindet, es mit der Speichelflüssigkeit ausfließt, bevor die schädigende Wirkung des Speichels sich entwickelt hat. Bei anderen Tieren dagegen könnte der Speichel eine viel höhere schädigende Einwirkung auf das Wutvirus besitzen, und in diesem Falle wäre er niemals infektiös.

Ich besitze keine Daten, um diese Hypothese zu unterstützen, die vielleicht doch in Betracht gezogen zu werden verdient.

Eine einzige Probe habe ich ausgeführt um zu prüfen, ob der Hundespeichel wirklich eine das Virus schädigende Wirkung habe. Ich habe zwei Gl. submaxillares eines großen, an Verblutung verendeten Hundes aufgenommen, sie mit sterilem Sande zerrieben, das ganze in 75 ccm physiologischer Lösung in einem auf 4° gebrachten Raume mazerieren lassen. Nach 24 Stunden filtrierte ich es unter Schütteln. 2 ccm dieses wässerigen Extraktes brachte ich in zwei Röhrchen, in andere ebensoviel sterile physiologische Flüssigkeit. Andererseits präparierte ich eine Emulsion und zwar mit dem Encephalus eines an fixem Virus verendeten Kaninchens in 50 ccm physiologischer Lösung und filtrierte. Den zwei Röhrchen mit Drüsenextrakt fügte ich 0,5 resp. 7 ccm dieser filtrierten rabiden Emulsion bei; ebenso verfuhr ich mit der physiologischen Lösung. Ich hielt die Mischung 20 Stunden lang auf 4°, worauf ich mit gleichen, den diversen Röhrchen entstammenden Materialquantitäten 4 Kaninchen injizierte. Nur das mit der Mischung (2 ccm NaCl + 1 ccm Wutemulsion) inokulierte Kaninchen verstarb an Wut.

Ich brauche wohl nicht besonders zu erwähnen, daß ich mich jeder Konklusion enthalte, unzweifelhaft aber erhält die Hypothese durch diese Probe eine Stütze und verdient also bei den Untersuchungen über die Diffusion des Virus in den Drüsen der verschiedenen Tiere berücksichtigt zu werden.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis des Bacillus des malignen Oedems.

[Aus der bakteriologischen Abteilung des Hygiene-Institutes der Universität Zürich. Vorstand: Privatdozent Dr. W. Silberschmidt.]

Von **Ernst Bachmann**, prakt. Arzt,
ehemaligem Assistenten am Institut, zur Zeit Assistenzarzt an der med. Klinik Zürich.

Die unter den Namen akut purulentes Oedem, Rauschbrand, malignes Oedem, Gasphlegmone, Gasbrand, Gangrène foudroyante bekannte Erkrankung gehört namentlich der vorantiseptischen Zeit an. Seit Einführung der anti- bzw. aseptischen Wundbehandlung sind diese Krankheitsbilder viel seltener geworden und infolgedessen auch bakteriologisch nicht so weit aufgeklärt wie viele andere Infektionen. Als Erreger wurden neben aeroben eine Anzahl anaerober Bakterien beschrieben,

die einer genauen Klassifizierung und Differenzierung immer noch harren, um so mehr, als von den einzelnen Autoren verschiedene Mikroorganismen als die spezifischen Krankheitserreger angegeben werden.

Wir haben es unternommen, einige Mikroben dieser Gruppe einer vergleichenden Untersuchung zu unterziehen und gehen vorerst zur Beschreibung der eigenen Versuche über. — In dieser Arbeit wurden die morphologischen und kulturellen Eigenschaften, welche in letzter Zeit von einer Reihe namhafter Autoren eingehend geschildert worden sind, nicht so sehr berücksichtigt, als ein Merkmal, welches zur Differenzierung bei anderen Bakterien mit Erfolg angewandt wurde, die Agglutination.

Für die Untersuchungen standen uns folgende Stämme von Oedembacillen zur Verfügung:

Stamm A wurde im hiesigen bakteriologischen Laboratorium aus einem Fall von malignem Oedem beim Menschen von Herrn Dr. Silberschmidt isoliert¹⁾.

Stämme B und D kommen aus dem Pasteurschen Institut zu Paris.

Stamm C bezogen wir aus Králs bakteriologischem Institut zu Prag.

Stamm E wurde seit vielen Jahren im hiesigen bakteriologischen Institute als Stammkultur weiter gezüchtet.

Ferner wurden geprüft zum Teil zu Vergleichszwecken:

Bacillus von Ghon und Sachs. Bezugsquelle war Králs bakteriologisches Laboratorium.

Rauschbrandbacillus, den wir dem Institut Pasteur in Paris verdanken.

Bacillus phlegmones emphysematosae, den wir der Freundlichkeit Dr. Eug. Fraenkels verdanken.

Der Enteritidis sporogenes von E. Klein als zu weit abstehend, wurde im Laufe der Untersuchungen wieder ausgeschaltet.

Kurz vor Abschluß der Arbeit wurden uns aus Berlin von Herrn Dr. Beitzke 2 Stämme freundlichst übersandt. Der eine war ein Stamm von malignem Oedem aus dem Kochschen Institut und der andere war ein Rauschbrandstamm aus der Sammlung von Herrn Prof. Ostertag.

I. Morphologisches, kulturelles und tierpathogenes Verhalten.

A. Morphologie.

Obligat anaërobe, ziemlich kräftige, an den Enden etwas abgerundete Stäbchen. Der Form nach lassen sich die verschiedenen Bacillenarten nicht mit Bestimmtheit auseinanderhalten. Zahlreiche peritrich angeordnete Geißeln finden sich bei allen, außer dem Bacillus phlegmones emphysematosae, den wir am Schlusse kurz beschreiben wollen. Trotz der Geißeln finden wir alle Stufen der Beweglichkeit. Von den Oedemstämmen sind A, C und E sehr lebhaft beweglich, B und D dagegen nur sehr träge. Ghon und Sachs schildern ihren Bacillus als sehr lebhaft beweglich bei geeigneter Züchtung. Leider haben wir den betreffenden Bacillus nur sehr schwer beweglich gefunden. Der Rauschbrandbacillus ist vollständig unbeweglich. Die Neigung zur Bildung kürzerer oder längerer Ketten wechselt je nach den Kulturen; beim

1) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLI. p. 428. 1. Fall.

Rauschbrandbacillus ist dieses Bestreben überhaupt geringer. Aus dem Gesagten geht hervor, daß die Beweglichkeit als differentialdiagnostisches Merkmal kaum mehr verwertbar ist, ebensowenig wie die Färbbarkeit nach Gram. Die meisten Autoren geben an, daß die Bacillen des malignen Oedems bis zu einem gewissen Grade nach Gram entfärbbar sind, was wir bestätigen können. Bei den verschiedenen Stämmen des malignen Oedems zeigen sich schon in 2-tägigen Bouillonkulturen zahlreiche, ovale, stark lichtbrechende Sporen. Dabei verändern die Bacillen entweder ihre Form nicht, oder aber die Sporen überragen den Bacillenleib in seinen seitlichen Grenzen, und bekommt dann das Bakterium je nachdem ein spindelförmiges oder trommelschlägerartiges Aussehen. Von den Sporen beim Tetanusbacillus unterscheiden sie sich durch ihre ovale Form. Am meisten sind die Sporen einem Ende etwas näher gerückt, seltener schon ganz endständig. Ein konstantes Verhältnis bei ein und demselben Stamm ist nicht zu beobachten.

B. Kulturelles Verhalten.

Agar. Die einfachste Züchtungsmethode ist das Impfen in flüssigem Zustande und das nachherige Erstarrenlassen, 10 Minuten werden die zu impfenden Röhrchen ins kochende Wasser gehalten, dann auf ungefähr 40° abgekühlt, das eine Mal rasch, das andere Mal langsam, ohne einen Unterschied im Wachstum zu sehen. Nach erfolgter Impfung wurde der Agar rasch zum Erstarren gebracht. Um aus solchen Kulturen weiter zu überimpfen, verwendet man am besten die Pasteurschen Pipetten. Daneben hielten wir uns an die Stichkulturen. Der Agar hatte immer einen Zusatz von 1-proz. Traubenzucker. Die Züchtung in hoher Schicht, die Ueberschichtungsmethode, wurde in einzelnen Fällen auch geprüft.

Die Größe der Kolonien in Agar variiert je nach der Menge des geimpften Materials von kleinen punktförmigen bis zu solchen von einigen Millimetern Durchmesser. Diese letzteren Kolonien sind entweder in ihrem ganzen Umfang von gleichem Gefüge oder sie haben meistens in der Mitte eine kompaktere Stelle und darum herum einen lichter Hof. Die weißen, kugeligen Kolonien sind bei einigen Stämmen am Rande nur leicht gebuchtet, bei anderen tiefer eingeschnitten, so daß das ganze Gebilde je nachdem ein gelapptes, wolkiges oder schneeflockenartiges Aussehen bekommt. (Rauschbrandbacillen, Bacillus Ghon und Sachs.)

Wurde viel Material geimpft, so war die Gasbildung, namentlich bei den Stämmen B und D malignes Oedem eine stürmische, einhergehend mit starker Zerklüftung des Nährbodens; bei ganz wenigen Kolonien unterblieb hie und da die Gasbildung ganz.

Im Agarstich wachsen alle Stämme in Form eines oft ziemlich breiten Bandes mit deutlicher Querstreifung. Beim Bacillus Ghon und Sachs und beim Rauschbrandbacillus sind die Ausläufer etwas lockerer und haben an den Enden kolbige Anschwellungen.

Gelatine. Die am 2. Tage punktförmig erscheinenden Kolonien in der Tiefe des Nährbodens wachsen zu zarten Kugeln von einigen Millimetern Durchmesser aus mit strahligen Ausläufern. Vom 4. bis 6. Tage verliert die Kolonie ihr typisches Aussehen zufolge der eingetretenen Verflüssigung. In der Raschheit der Verflüssigung konnten keine Unterschiede beobachtet werden bei den einzelnen Oedemstämmen, während beim Rauschbrand die Verflüssigung bedeutend langsamer vor sich ging.

Bouillon. Von den zahlreichen Methoden der Anaërobenzüchtung in flüssigen Nährböden übten wir diejenige nach Buchner mit Kalium pyrogallicum. Die Kalilauge wurde 10 Minuten gekocht, nachher bis 40° abgekühlt. Da die letzten Spuren Sauerstoff bei niedriger Temperatur rascher und vollständiger reduziert werden, blieben die Cylinder immer erst 6 Stunden im Eisschrank. Auch die Züchtung durch Herstellen des Vakuums wurde hie und da durchgeführt. Am meisten Gebrauch machten wir von dem Verfahren nach Trenkmann durch Zusatz von 1-proz. Schwefelnatrium (Na_2S) zur Kulturflüssigkeit. Durchschnittlich sollten die Schwefelnatriumlösungen alle 14 Tage erneuert werden, da sie auf die Dauer an Wirksamkeit einbüßen. Den geimpften Röhrchen wurden 15–25 Tropfen der 1-proz. Lösung zugesetzt. Einzelne Stämme erwiesen sich als empfindlicher. Allzugroße Mengen von Na_2S beeinflussen in ungünstigem Sinne die Beweglichkeit der Bacillen. Das von Hammerl eingeführte NH_4HS -Ammoniumsulfhydrat an Stelle des Na_2S wurde nicht geprüft. Auch von den anderen Methoden, wie dem Kochen oder Gefrierenlassen der Bouillon mit nachherigem Ueberschichten mit Agar, Paraffin, Oel etc., wurde Umgang genommen.

In allen Bouillonkulturen war nach 12 Stunden diffuse Trübung, oft schon mit einem deutlichen flockigen Bodensatz zu sehen. Der Bodensatz nimmt in nächster Zeit zu, womit eine mehr oder weniger rasche Klärung des übrigen Nährbodens einhergeht. Am raschesten geht dieser Prozeß vor sich beim Bacillus von Ghon und Sachs. Alle frischen Kulturen haben auf der Oberfläche einen Saum von Gasblasen, der bei den Stämmen B und D malignes Oedem am stärksten ist.

Von vielen Autoren wurden mit Recht die Milch und das Blutserum zur Differentialdiagnose herangezogen.

Blutserum. Das klare flüssige Rinderserum wurde durch Erhitzen auf 80° senkrecht zum Erstarren gebracht und darauf Stichkulturen angelegt, ähnlich wie in geraderstartem Agar mit und ohne Ueberschichtung durch Agar.

Die Stämme malignes Oedem A, C und E verflüssigten das Serum ziemlich rasch. Dabei entwickelte sich ein intensiver Geruch nach Schwefelwasserstoff. Die gebildete Flüssigkeit war leicht schwarz und am Boden blieben einige schwarzgefärbte Klümpchen übrig.

Bacillus Ghon und Sachs, der Rauschbrandbacillus und die Oedemstämme B und D zeigten ein anderes Verhalten. Im Inneren des Serums waren Gasblasen zu sehen, auf dem Serum eine klare seröse Schicht, die nach etwa 6 Tagen ungefähr 2 cm hoch war. Von einer Schwarzfärbung und einem Geruch nach Schwefelwasserstoff konnte hier nichts konstatiert werden.

Milch. Die frisch sterilisierte, nicht abgerahmte Milch wurde vor dem Impfen 10 Minuten lang im Wasserbad gekocht und rasch abgekühlt. Die meisten Röhrchen wurden vorsichtig am Rande geimpft und ohne weitere Vorsichtsmaßregeln in den Brutschrank gestellt. Die Anwendung des Buchnerschen Verfahrens erwies sich als nicht erforderlich.

Die Milch wurde beim Stehenlassen im Brutschrank nach verschieden langer Zeit mehr oder weniger vollständig peptonisiert von den Oedemstämmen wie von Bacillus Ghon und Sachs. Am Boden blieb ein flockiges oder dichter gefügtes Gerinnsel zurück.

Die Säurebildung wurde bei sämtlichen Stämmen durch Titration der 3-tägigen Zuckerbouillonkulturen in Pyrogallussäure mit $\frac{1}{10}$ Normal-

natronlauge bestimmt, nachdem vorerst die, mit in dem Pyrogalluscyylinder gewesene Kontroll-Zuckerbouillon mit $\frac{1}{10}$ Normalschwefelsäure auf ihre Alkalinität geprüft worden war. Bei allen Stämmen trat Säurebildung auf, und zwar annähernd im selben Grade; bei Ghon und Sachs etwas geringer als bei den Oedemstämmen und umgekehrt beim Rauschbrand etwas stärker.

Die Stämme A, C und E malignes Oedem entwickelten in sämtlichen Kulturen, namentlich aber im Blutserum einen stark üblen Geruch, wie das bei den Stämmen B und D malignes Oedem und Bacillus Ghon und Sachs nicht der Fall war.

Wenn wir kurz die charakteristischen Merkmale des Bacillus phlegmones emphysematosae schildern sollen, so haben wir es mit einem Mikroorganismus zu tun, der noch etwas plumper ist in seiner Form als der Oedembacillus. Dann ist er unbeweglich und bildet keine Sporen, hat keine Geißeln, ist Gram-positiv. In Agar bildet er runde weiße, kleine Kolonien mit einem dunkleren Zentrum, verflüssigt die Gelatine langsam, trübt die Bouillon diffus, bildet in den genannten Kulturen Gas, verflüssigt das Serum nur langsam und peptonisiert die Milch unvollständig. Die Kulturen weisen nicht den typisch stinkenden Geruch derjenigen der Oedembacillen auf.

Von den 2 nachträglich erhaltenen Stämmen muß hervorgehoben werden, daß sie in ihrem kulturellen Verhalten von den anderen Stämmen insofern abwichen, als der Rauschbrandbacillus kulturell mit den Stämmen A, C und E malignes Oedem übereinstimmte, dagegen der Oedemstamm mehr unserem Rauschbrandstamm aus Paris glich.

Dazu kommt noch, daß der Rauschbrandbacillus Berlin lebhaft beweglich war und in den Kulturen einen penetrant stinkenden Geruch entwickelte, während der Oedemstamm Berlin unbeweglich war und nicht so intensiven Gestank verbreitete.

C. Pathogenität.

Stamm A malignes Oedem. Am 14. Dez. 1903 wurden 3 Meerschweinchen, von 320—350 g, mit 5 ccm Aufschwemmung einer 3-tägigen Agarkultur, das eine subkutan, das andere intramuskulär am Oberschenkel und das dritte intraperitoneal geimpft. Kein Tier zeigt irgendwelche Reaktion.

Am 29. Dez. 1903 bekommt ein Kaninchen 5 ccm einer 9-tägigen Agarkultur, ebenfalls keine Reaktion.

Der Stamm A hat sich übrigens schon bei den Untersuchungen von Herrn Dr. Silberschmidt als für Tiere vollständig avirulent erwiesen.

Stamm B malignes Oedem. Am 16. Jan. 1904 wurde 1. Meerschweinchen, 360 g, mit 2 ccm Aufschwemmung einer 24-stündigen Agarkultur intramuskulär am Oberschenkel geimpft. Nach 24 Stunden große, stark fluktuierende Schwellung in der entsprechenden Inguinalbeuge. Nach 36 Stunden großes Oedem auf der Bauchseite bis zum Brustkorbande und nach ungefähr 40 Stunden Exitus.

Bei der sofort vorgenommenen Sektion findet man im Unterhautzellgewebe eine succulente, rötlich tingierte Masse. Die Haut ist abgehoben. Die inneren Organe ohne makroskopische Veränderungen.

19. Jan. 1904. 2. Meerschweinchen, 355 g. Eine Agarkultur angelegt aus der subkutanen Oedemflüssigkeit vom Meerschweinchen 1 wird nach 24 Stunden zur Aufschwemmung benützt, letztere 10 Minuten

ins kochende Wasser gehalten und nachher 2 ccm davon intramuskulär geimpft. Nach 1½ Tagen Exitus.

Die Sektion ergab denselben Befund wie oben.

12. Mai 1904. 3. Meerschweinchen, 280 g. Einspritzung von 0,5 ccm Aufschwemmung einer 48-stündigen Agarkultur subkutan am Bauch. In der Nacht erfolgte der Tod und die Sektion am kommenden Morgen ergab in allen Teilen das Bild des malignen Oedems.

Stamm C malignes Oedem. Ein Meerschweinchen, 450 g, erhält 1 ccm Aufschwemmung einer 40-stündigen Agarkultur subkutan am Bauch. Keine Reaktion.

Am 7. Juli wird dasselbe Tier mit 5 ccm Aufschwemmung einer 48-stündigen Agarkultur geimpft und zeigt wiederum keine Reaktion.

Stamm D malignes Oedem. 22. Jan. 1904. 1. Meerschweinchen, 340 g, bekommt eine Injektion von 2 ccm Aufschwemmung einer 2½-tägigen Agarkultur subkutan am Bauch. Das Tier starb in der darauffolgenden Nacht. Bei der Sektion zeigte sich an der Injektionsstelle keine Veränderung, Unterhautzellgewebe vollständig normal. Bei Eröffnung des Peritoneums ziemlich viel Exsudat, und namentlich in den Pleurahöhlen ein ganz beträchtlicher Erguß. Da das Bild gar nicht an das eines an malignem Oedem gestorbenen Tieres erinnert, werden weiter keine Untersuchungen gemacht und der Tod einer interkurrenten Krankheit zugeschrieben.

3. Febr. 1904. 2. Meerschweinchen, 360 g, wird injiziert mit 1 ccm Aufschwemmung einer 48-stündigen Agarkultur subkutan am Bauch. In der folgenden Nacht Tod. Bei der Sektion am folgenden Morgen wieder kein subkutanes Oedem, dagegen ein mächtiges peritoneales und pleuritisches Exsudat. Kulturen aus Exsudat und Herzblut ergaben anaërobe Bacillen, die sich als solche des malignen Oedems erwiesen. Da der Sektionsbefund des 1. Tieres sich vollständig mit dem des 2. Tieres deckt, wird wohl auch der Tod des 1. Meerschweinchens auf denselben Erreger zurückzuführen sein.

Bacillus von Ghon und Sachs. 8. Febr. 1904. 1 ccm Aufschwemmung einer 24-stündigen Agarkultur wird einem Meerschweinchen von 450 g subkutan am Bauch eingespritzt. Das Tier zeigt keine Reaktion.

8. Juli 1904 wird ein Meerschweinchen, 200 g, mit 5 ccm Aufschwemmung einer Agarkultur injiziert. Keine Reaktion.

Rauschbrandbacillus Paris. 5. Febr. 1904. Meerschweinchen, 450 g, erhält 1 ccm Aufschwemmung einer 48-stündigen Agarkultur subkutan am Bauch injiziert. Tod in der folgenden Nacht. Die Sektion ergibt leichtes subkutanes Oedem in einem Bereiche von etwa 3 cm um die Injektionsstelle herum sich ausdehnend in beide Inguinalbeugen. Ziemlich viel peritoneales Exsudat, an den innern Organen keine makroskopischen Veränderungen. Es werden Kulturen angelegt aus dem Herzblut und der rötlich tingierten subkutanen Oedemflüssigkeit.

Bacillus phlegmones emphysematosae Fraenkel. 6. Mai 1904. Ein Meerschweinchen, 355 g, wird mit 1 ccm einer im Vacuum gezüchteten Bouillonkultur subkutan am Bauch injiziert. Das Tier reagiert gar nicht.

Stamm F malignes Oedem. Am 7. Juli 1904 wird ein Meerschweinchen, 200 g, subkutan am Bauch geimpft mit 2 ccm Aufschwemmung einer 48-stündigen Agarkultur. Das Tier bleibt am Leben.

Rauschbrandbacillus Berlin. Am 7. Juli 1904 bekommt

ein Meerschweinchen, 200 g, 2 ccm Aufschwemmung einer 48-stündigen Agarkultur. Das Tier bleibt gesund.

Sämtliche Sektionen wurden immer unter möglichst sterilen Kautelen vorgenommen.

Bevor wir auf die Agglutinationsversuche eingehen, wollen wir kurz die Entwicklung der Lehre des Bacillus des malignen Oedems beschreiben. Da verschiedene neuere Arbeiten, unter anderen die von Ghon und Sachs, eine eingehende Berücksichtigung der Literatur enthalten, können wir uns auf die wesentlichsten Punkte beschränken.

Der im Jahre 1877 von Pasteur entdeckte *Vibrio septique* als Erreger der Septikämie und der Bacillus des malignen Oedems Kochs haben sich als identisch herausgestellt. Koch wollte den Namen Septikämie nicht annehmen, weil er seinen Bacillus selten im Blut, am häufigsten dagegen im Unterhautzellgewebe fand.

Gaffky, Roux, Joubert, Chamberland haben diesen Bacillus einer eingehenden Prüfung unterworfen. Eine angeblich identische Art hat Liborius aus Gartenerde gezüchtet und ist ihm die Isolierung in Reinkultur gelungen. Der Mangel an Gasbildung stimmt zwar nicht mit den Befunden beim Kochschen Oedembacillus überein, ebenso wenig wie das Fehlen jedes stinkenden Geruches aller Kulturen. Gar nicht in den Rahmen des malignen Oedems hinein paßt der Pseudoödembacillus von Liborius, ein häufiger Begleiter des echten Oedembacillus, in der Form aber dicker und an beiden Enden je eine Spore tragend.

Der „neue Oedembacillus“ von E. Klein und der mit diesem identische Pseudoödembacillus von Sanfelice sind aerobe, fakultativ anaerobe Bacillen, haben also mit den streng anaeroben Oedembacillen nur den Namen gemeinsam. Der „*Bacillus oedematis maligni* II“ von Novy (1894) hat keine Sporen, ist Gram-positiv, für Tiere pathogener als der Pasteursche Bacillus, zeigt Riesengeißeln und findet sich selten im subkutanen Gewebe der verendeten Tiere. v. Hübner hat gezeigt, daß es Stämme von Oedembacillen gibt, die für Tiere vollständig avirulent sind.

Bis dahin hatte man dem Oedembacillus in der menschlichen Pathologie keine große Bedeutung geschenkt. Diese Ansicht wurde noch bestärkt durch Eugen Fraenkel, der im Jahre 1893 den Bacillus phlegmones emphysematosae als den spezifischen Erreger der Gangrène foudroyante beschrieb. Diese Behauptung fand ihre Bestätigung durch die Untersuchungen Welchs, dessen Bac. aërogenes capsulatus sich vollständig deckt mit demjenigen des ersten Autors. Auch Hirschmann und Lindenthal haben denselben Bacillus bei ihren Fällen von Gasgangrän isoliert. Auf Grund ihrer Untersuchungen kommen Grassberger und Schattenfroh zur Annahme, daß der Bacillus phlegmones emphysematosae nur eine pathogene Abart des Buttersäurebacillus sei, wogegen sich Fraenkel wehrt und nichts wissen will von einer Identität seines Bacillus mit dem Granulabacillus im mobilis der beiden genannten Autoren.

Eine jüngst erschienene Arbeit von Kamen erbringt den Beweis, daß die 3 erwähnten Bacillen identische Arten sind. Auch der von Muscatello und Gangitano beschriebene Bacillus reiht sich den genannten als mit ihnen identisch an.

Der Fraenkel-Welchsche Gasbacillus unterscheidet sich vom Oedembacillus durch die plumpere Form, das Fehlen von Sporenbildung, die Unbeweglichkeit und den Mangel an Pathogenität gegenüber Kaninchen.

Schon Hitschmann und Lindenthal haben dargetan, daß der Gangrène foudroyante mehrere Arten von Bakterien zu Grunde liegen, und daß namentlich auch der Oedembacillus mit ein Haupterreger dieser Krankheit ist. Ihre Bestätigung hat diese Ansicht durch Silberschmidt erfahren, der in 2 Fällen von Gasgangrän den Bacillus des malignen Oedems gefunden hat, obschon Fraenkel sich in der Annahme der Spezifität seines Bacillus nicht beirren läßt.

Um das Studium des Rauschbrandbacillus haben sich namentlich Bollinger, Roux, Kitasato, Leclaniche et Vallée, Duenschmann, Kitt und in neuerer Zeit Grassberger und Schattenfroh verdient gemacht.

Leclaniche et Vallée und mit ihnen die meisten Autoren halten an der Erzeugung des Rauschbrandes durch einen spezifischen Bacillus fest, während Grassberger und Schattenfroh die Existenz eines solchen bezweifeln. Für diese beiden Autoren ist der Rauschbrandbacillus ein echter Buttersäurebacillus mit einem doppelten Entwicklungskreis, einer unbeweglichen, sporenfreien, avirulenten und einer beweglichen, sporentragenden, virulenten Art.

Wie sich Grassberger und Schattenfroh zum Rauschbrand- und Oedembacillus stellen, erhellt am besten aus einer Schlußbemerkung der III. Abhandlung über Buttersäuregärung, wo es heißt: „Wir glauben den natürlichen Verhältnissen keine Gewalt anzutun, wenn wir Rauschbrandbacillen und Genossen unter die Buttersäurebacillen einreihen. Jedenfalls erscheint uns die Annahme einer Spezifität der beschriebenen Mikroorganismen im Sinne einer strengen Sonderstellung derselben nicht als die glücklichste Lösung dieser Frage.“

Dabei teilen die genannten Autoren analog wie beim Rauschbrandbacillus, die Buttersäurebacillen in 2 Gruppen ein, in avirulente, fäulnis-erregende Buttersäurebacillen und in virulente, die sich den Oedembacillen nach Pasteur und Koch nähern.

In neuerer Zeit haben Ghon und Sachs einen Bacillus isoliert, den sie anfänglich trotz eingehender Studien als nicht vollkommen identisch mit dem Kochschen Oedembacillus ansehen konnten. Klinisch deckt sich die erzeugte Krankheit vollständig mit dem Gasbrand; der Mikroorganismus aber zeigt keines der charakteristischen Merkmale des Gasbacillus. Er ist unter geeigneten Züchtungsmethoden lebhaft beweglich und bildet Sporen, ist dabei für alle Versuchstiere virulent. Die ersten Publikationen schienen mit beitragen zu wollen zu der Ansicht, daß es sich beim malignen Oedem um eine Gruppe von Bacillen handelt; am Schlusse ihrer Arbeit aber erklären sie auf Grund vergleichender Studien ihren Bacillus als identisch mit dem *Vibrio septique Pasteurs*, somit auch mit dem Kochschen Oedembacillus und machen so den Versuch, die Einheit wieder herzustellen.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Bakteriologische Untersuchungen über Cervicitis und Endocervicitis bei Schwangerschaft.

Beitrag zum Studium der Mikroorganismen des Genitalkanals der Schwangeren.

[Aus dem Institute für Geburtshilfe und Gynäkologie der Universität Genua (Prof. L. M. Bossi).]

Von Dr. **Francesco Varaldo**, Assistent.

Aus der zahlreichen Literatur der bakteriologischen Untersuchungen des Scheidensekretes Schwangerer ergibt sich, daß kein Forscher besonderes Augenmerk auf den Zustand der „Portio vaginalis“ des Uterushalses legte.

Nirgends wird der Portio erwähnt, und es scheint, als ob sie als einfluß- und beziehungslos auf die Scheidensekretion angesehen wurde. Dagegen beschränkten sich die Forscher nicht auf die Bestimmung des bakteriischen Gehaltes des Scheidensekretes, sondern sie untersuchten auch sorgfältigst die Beschaffenheit, die physischen und chemischen Eigenschaften in verschiedenen Zeitpunkten in ihren eventuellen Modifikationen und legten dem Scheidensekrete selbst eine besondere bakterizide Kraft bei.

Was nun den Bakteriengehalt der Scheide betrifft, so werden die verschiedenen, sich widersprechenden Resultate von den Autoren teils Fehlern in der Technik, teils der Anwendung ungeeigneter Nährmedien zugeschrieben. Es wird jedoch allgemein angenommen, daß auf der hinteren Scheidewand die Keime sich in größerer Anzahl vorfinden und es hier leichter sei, pathogene Keime zu entnehmen. Man beobachtete ferner, daß der Befund je nach der größeren oder geringeren Tiefe wechselt, in welcher man das Sekret nimmt. Nirgends lese ich aber, ob die Oese, der Löffel oder der Spiegel etwa in Berührung mit der Cervix kam und ob diese sich in physiologischem Zustande befand, obwohl bekannt ist, daß sowohl bei schwangeren wie nicht schwangeren Frauen die geschlechtlichen Infektionen — voran die gonorrhoeischen — sich hauptsächlich an der Cervix ansiedeln. Einige behaupten sogar, daß die Zahl der Bakterien im Cervixkanal während der Schwangerschaft zunimmt. Bumm hat bewiesen, daß der Hauptsitz der gonorrhoeischen Infektion der Cervixkanal und die Urethra ist, da die Plattenepithelien der Scheide einen zu starken Widerstand bieten, während die Cylinder-epithelien der Cervixschleimhaut sich leicht überwinden lassen. Diese Gründe können selbstverständlich auch für die anderen gewöhnlichen Infektionen gelten.

Um die Entstehung der pathologischen Sekretion aufzuklären, hat man zwei Gruppen von Einwirkungen aufgestellt, von denen die erste nur funktionelle Veränderung, eine vermehrte Absonderung der Scheidewände verursacht (venerische Ausschweifung, mechanische oder chemische Reizung), die zweite dagegen tiefere anatomisch-pathologische Veränderungen der Schleimhaut des Genitalkanals bestimmt.

Es ist allgemein angenommen, daß diese zweite Gruppe meistens als Entzündungsprozeß, oft auch mikrobischer Natur (*Gonococcus*), auftritt, der vorzugsweise die Cervixschleimhaut befällt, daß ferner die

„Portio vaginalis“ am leichtesten von Entzündungen ergriffen wird und daß gerade durch die entzündete Cervix jene an eitriger alkalischer Flüssigkeit reiche Sekretion entsteht. Indem dadurch das normale Scheidensekret verändert wird, sind die zum Leben der Saprophyten und pyogenen Keime nötigen Bedingungen gegeben. Dessen ungeachtet heftet sich die Aufmerksamkeit der verschiedenen Forscher fast niemals oder nur zufällig bei ihren Untersuchungen auf den Zustand der Portio und niemals erstrecken sich jene auf die Portio.

Um die bakterizide Eigenschaft des Scheidensekretes zu erklären, wurde der Antagonismus der in der Scheide lebenden Bakterien, der Mangel an Sauerstoff, die Phagocytose, hauptsächlich aber die Säure des Sekretes ins Feld geführt, welche den pathogenen Keimen Ansiedelung und Fortkommen in der Scheide unmöglich machen. Nach meiner Ansicht ist es jedoch immer die Portio, welche der mindest beschützte Teil ist, weil sie unmittelbar mit dem Cervixschleim in Berührung steht, welcher stark alkalische Reaktion hat und welcher oft bei Mehrgebärenden die beiden Muttermundslippen bedeckt. Auch kommen an der Portio kleine und häufige Blutungen vor, welche den Mikroorganismen Nahrung und geeignete Mittel zum Fortbestehen geben, besonders wenn Läsionen des Halses vorhanden sind.

Um die von Kroenig behauptete Asepsis der Scheide Schwangerer zu erklären, legt Menge großen Wert auf den Umstand, daß bei Aufhören der Menstruation das Scheidensekret sich nicht mit dem Menstruationsblute und dem Cervixschleime vermischt und daher dessen Säure einen höheren Grad annimmt, wodurch sich nur bestimmte Bakterienarten anzusiedeln, zu vermehren und die anderen Bakterien zu überwuchern vermögen, welche allenfalls die Scheide angreifen. Wenn aber diese Hypothese Menges für gesunde Schwangere Wert besitzt, können wir sogar annehmen, daß dagegen bei schwangeren, aber mit Cervicitis und tiefen Läsionen der Cervix behafteten Frauen alle jene Faktoren vorhanden sein können wie bei den Nichtschwangeren, und zwar jene Faktoren, welche Menge für fähig hält, die keimtötende Kraft des Scheidensekretes herabzusetzen und welche erklären, wie sich unter gewissen Bedingungen auch die pathogenen Keime im Scheidensekrete vorfinden können. Solche Faktoren sind reichliche Sekretion des Cervixschleimes, häufige Blutungen und erworbene Gonorrhöe.

Es wurde auch dem Cervixschleime bakterizide Kraft beigemessen [Menge, Stroganoff¹⁾], allein die Untersuchungen Walthards be-

1) Stroganoff und Walthard machten Untersuchungen über die antibakterische Kraft des Cervixschleimes Schwangerer, wobei ersterer annimmt, daß der Schleim für sich bakterizide Kraft besitze, während letzterer dies verneint. Walthard nimmt jedoch an, daß durch die Phagocyten oder die mechanische Ausführung der Keime bei der fortwährenden Erneuerung des Cervixsekretes eine Selbstreinigung des Cervixkanales stattfindet.

Stroganoff mischte den *Staphylococcus albus* mit Cervixschleim und brachte von dieser Mischung eine Platinöse in Agar und Gelatine, die er in eine Petri-kapsel goß. Er wiederholte die Züchtung mit der erwähnten Mischung nach 6, 8, 24, 48 Stunden, und bemerkte, daß die aus diesen Versuchskulturen erhaltene Anzahl der Kolonien bei den ersten Versuchen (nach 6—8 Stunden) schnell sank, aber daß sie nach 48 Stunden zunahm und fast die anfängliche Quantität wieder erreichte. Stroganoff glaubt daraus schließen zu können, daß der Schleim sogleich nach der Mischung mit der Kultur auf die Mikroorganismen mit seiner antibakterischen Kraft einwirkt, aber daß diese sich nach einiger Zeit abschwächt und vollständig verliert.

Wir können uns diesen Schlußfolgerungen Stroganoffs nicht anschließen, da seine eigenen Untersuchungen bestätigen, daß die Mikroorganismen in Verbindung mit

weisen, daß er nur ein für Mikrobenzüchtung ungünstiges Nährmittel ist. Wenngleich einige Versuche Walthards anfechtbar sind, weil er seinen Nährmedien den Schleim verdünnt beimgelte, so verdienen jene große Beachtung, bei welchen er darlegt, daß die verschiedenen pathogenen Mikroorganismen aus dem reinen Cervixschleime für lange Zeit ihre Lebensfähigkeit bewahren können.

Ich wollte die Versuche Walthards nachprüfen und vervollständigen und meine Schlußfolgerungen bestätigen, daß der Cervixschleim keine bakterizide Kraft besitze, aber auch kein Kulturmedium darstellte.

Zu meinen Untersuchungen zog ich hauptsächlich in vorgerückter Schwangerschaft (8.—9. Monat) befindliche Erstgebärende herzu, deren Uterushals ohne Läsionen war. Nach vorausgegangener Desinfektion der äußeren Genitalien legte ich den Uterushals mittels des Spiegels Collin-Bossi frei und desinfizierte mechanisch mittels sterilen Wattebäuschchen die Portio. Hierauf führte ich in den Cervixkanal bis zum inneren Muttermunde das krumm gebogene Ende einer 25 cm langen und 0,5 cm weiten Pipette, deren anderes Ende mit einem kräftigen Kolbenaspirator in Verbindung gebracht war. Bei diesem Ende befinden sich zwei mit sterilen Wattebäuschchen ausgefüllte Verengungen und zwischen jeder derselben eine kleine Oeffnung, welche die Saugfunktion jederzeit zu unterbrechen gestattet. Es gelang leicht, mir eine ziemliche Quantität Schleim von den obersten Partien des Cervixkanales zu verschaffen. Dieser sehr zähe, durchsichtige, klebrige Schleim erschien unter dem Mikroskop rein und nur mit spärlichen Leukocyten und wenigen bacillären Formen sowie mit einigen Cylinderzellen vermischt. Wenn der Schleim durch technischen Irrtum mit Blut vermischt war, verwendete ich ihn nicht zu meinen Untersuchungen.

Die Versuche wurden mit Kulturen von *Bacterium coli* und *Staphylococcus aureus* gemacht. Ich strich einmal mit dem Platinspatel über eine 48 Stunden in schräg Agar befindliche Kultur, löste Kolonien eines jeden der obigen Mikroorganismen in 5 ccm destillierten und sterilisierten Wassers, dann nahm ich einen Tropfen von diesem und löste ihn in 5 ccm ebenfalls destillierten und sterilisierten Wassers. Mittels des Platinfadens übertrug ich ein winziges Tröpfchen dieser zweiten Lösung auf ein ausgeglühtes Deckgläschen und gab eine kleine Quantität des Schleimes darauf, den ich mittels der Platinöse direkt der Pipette entnommen hatte. Danach verwandelte ich rasch mittels eines geeigneten sterilen Objektträgers das Ganze in Tropfglaskulturen. Die Gläschen ließ ich 24—36 Stunden in 37° und beobachtete sie von Zeit zu Zeit unter dem Mikroskop. Oeffters gebrauchte ich zur Infizierung des Schleimes in Tropfglaskultur statt der in destilliertem und sterili-

dem Schleime ihre Lebensfähigkeit behalten, und weil es uns bei der Zähigkeit des Cervixschleimes, auch wenn dieser längere Zeit in einer Flüssigkeit gehalten wird, zu schwer erscheint, eine genaue und gleichmäßige Mischung zu erhalten, endlich weil Stroganoff nicht mit reinem Schleime, sondern mit solchem, dem Nährmedien beigefügt war, experimentierte.

Walthard machte Versuche mit gelöstem und auf schräges Agar gestrichenem Schleim und konnte feststellen, daß ungeachtet des Schleimes auf demselben Agar die Züchtung der gewöhnlichen pathogenen Keime möglich war. Dagegen kann jedoch eingewendet werden, daß der gelöste und dem Agar beigemischte Schleim, wie es mit Glycerin der Fall ist, ein gutes Kulturmittel werden kann, auch wenn er „rein“ antibakterische Eigenschaften besäße.

In einer anderen Versuchsreihe gebrauchte Walthard reinen Cervixschleim, den er auf sterilisierte Deckgläschen ausstrich. Die auf diesen Schleim übertragenen Keime bewahrten ihre Lebensfähigkeit, obgleich sie keine Kolonien zu bilden im stande waren.

siertem Wasser verdünnten Bakterien ähnliche Verdünnungen von neutraler sterilisierter Bouillon und fügte denselben einen größeren Tropfen bei.

In keinem der Fälle unterließ ich es, auch gleichzeitig eine vergleichende Plattenkultur anzulegen, und zwar mit der gleichen Quantität der bakteriischen Lösung.

Die direkte Beobachtung des infizierten Schleimes durch das Mikroskop ist anfangs etwas schwer, da in dem Schleime viele strahlenbrechende Körnchen erscheinen; bei einiger Uebung unterscheidet man jedoch in der Nähe des Randes bald einige der beigefügten Bakterienformen.

Nach 24—36 Stunden nahm ich mittels Platinöse und Spatels das Material aus dem Gläschen und übertrug es in ein Röhrchen mit 2 ccm Bouillon, welcher ich flüssigen Agar beifügte. Davon legte ich eine Plattenkultur in Petrischalen an.

Es gelang mir, in 10 Versuchen festzustellen, daß sowohl das *Bacter. coli* als auch der *Staphylococcus* ihre Lebensfähigkeit im Cervixschleime bewahren, daß die Zahl der aus dem infizierten Schleime genommenen Kolonien in Tropfglaskulturen nach 36 Stunden fast immer so ziemlich der Kolonienzahl entspricht, die sich in den Kontrollagarplatten entwickelt, vorausgesetzt, daß zur Infizierung Bakterien verwandt sind, welche in sterilem Wasser verdünnt wurden. Dagegen ist die Zahl viel größer, wenn man die Infizierung mit in Bouillon versetzten Bakterien ausführt.

Daraus erhellt, daß das Cervixsekret nicht nur jeder antibakterischen Kraft entbehrt, sondern auch die Vermehrung der Mikroorganismen nicht verhindert, wenn sich in demselben die zu ihrer Entwicklung nötige Nahrung befindet.

Die Autoren, welche sich mit bakteriologischen Untersuchungen des Cervixkanals beschäftigten, beschränkten dieselben entweder auf jene Fälle, bei denen der Uterushals normales Aussehen hatte (man liest von „gesundem Uterushals“, manchmal ist dann beigefügt „Uterusausstülpung“, katarrhalischer Zustand, Erosion etc.“ — gewiß keine physiologischen Zustände), oder sie erwähnten der Beschaffenheit des Uterushalses in keiner Weise oder schrieben den Läsionen und entzündlichen Prozessen der Schleimhaut und der Wände des Cervixkanals keinerlei Wichtigkeit zu, während sie sich gewöhnlich bemühten, die Muttermundslippen und den äußeren Muttermund gründlich zu desinfizieren und das Sekret zu sammeln, ohne daß die Oese oder der Löffel mit den Uteruswänden in Berührung käme.

Walther ist der einzige, welcher sich bei der Untersuchung des Cervixsekretes mit dem Schleime beschäftigte, der sich nächst des Orif. ext. in dem subvaginalen Teile befindet. Er beschreibt denselben als von blaßgelber Farbe, flüssig, manchmal von saurer Reaktion, reich an Bacillen und Kokken, mit vielen Leukocyten. Der oberhalb befindliche Schleim ist dagegen von glasigem Aussehen, dick, zähe und ohne oder fast ohne Bakterien. Walther beschränkte diese Untersuchung auf 10 Schwangere, und erwähnt nicht, ob Läsionen des Uterushalses vorhanden waren oder nicht.

Winter, welcher annimmt, daß der bakteriische Befund des Cervixsekretes, mit dem er Untersuchungen anstellte, der gleiche sei wie jener der Scheide, sammelte das Material neben dem äußeren Muttermunde, auf den Muttermundslippen oder im ersten Teile des Cervixkanals. Auch

diese Untersuchungen sind an gesunden Schwangeren ausgeführt, und der Zustand der Portio wird nicht angedeutet.

Bei den Forschungen über das Scheidensekret wurde demnach der subvaginale Teil des Halses vollständig — mit obigen Ausnahmen — unbeachtet gelassen. Die Forscher, welche sich mit dem Cervixsekrete beschäftigten, untersuchten nur den bestverteidigten und geschützten Schleim in den höheren Teilen des Cervixkanals und ließen die Halswände, die Lippen, den äußeren Muttermund, sowie jenen blaßgelben flüssigen Schleim auf diesen Teilen ohne Beachtung, ja man entzog diesen Schleim durch chemische oder mechanische Desinfektion der Portio sorgfältigst jeder Prüfung.

So blieb der subvaginale Teil des Halses von den bakteriologischen Untersuchungen des Genitalkanales Schwangerer ausgeschlossen.

Der Uterushals ist aber bekanntlich der Hauptherd der Ansiedelung, Erhaltung und Verbreitung der Bakterien; am Uterushalse sind die Läsionen am häufigsten und die pyogenen Keime dringen daher hauptsächlich hier in die Gewebe ein und vegetieren und leben (Menge-Pichewin).

In 100 Fällen puerperaler Infektion konnte Pestalozza 57mal beweisen, daß die Infektion durch die Schleimhaut des Uterushalses eingeführt worden sei. Er nimmt an, daß der untersuchende Finger die Ansteckung während der Geburt dorthin trug. Wenn bei der Mehrzahl dieser Fälle Desinfektion und tiefe Aetzung der puerperalen Ulcerationen am Uterushalse genügte, um den Temperaturerhöhungen Einhalt zu tun, so ist das ein sicherer Beweis, daß die pathogenen Mikroorganismen am ehesten und leichtesten sich an der Portio vaginalis des Uterus ansiedeln und festhaften.

Diese befremdende Hintansetzung der Läsionen des Uterushalses bei schwangerem Uterus hatte die Folge, daß dieser nach meiner Ansicht wichtigste Teil von den bakteriologischen Untersuchungen ausgeschlossen blieb. Es wurden indes auch auf klinischem Gebiete bis jetzt die die Schwangerschaft komplizierenden Erkrankungen, wie Cervicitis und Endocervicitis, zu wenig beachtet.

Prof. Bossi legte dem gynäkologischen Kongresse in Rom seine interessante Arbeit über „Cervicitis und Endocervicitis während der Schwangerschaft“ vor, worin er ausführte, daß dieses Kapitel sowohl von Schriftstellern als auch von Klinikern vernachlässigt worden sei, obwohl derlei Komplikationen viel häufiger vorkommen, als bis jetzt angenommen wurde (10—15 Proz.), und die Folgen ernster sind als bis jetzt bekannt ist. Bossi bespricht in seiner Abhandlung die pathologische Anatomie und schlägt die betreffende Prophylaxis und Behandlung vor. Mit Bossi ist Calderini der Ansicht, daß die Aufmerksamkeit der Geburtshelfer diesem Argumente zugewendet werden solle, da die Cervicitis durch die Kongestion des schwangeren Uterus an Heftigkeit zunimmt und oft Ursache des Abortes wird. Prof. Pestalozza verhält sich optimistischer als Bossi, indem er bemerkt, daß die meisten Fälle keiner Behandlung bedürfen, weil bei der Cervicitis wirkliche Ulcerationen fast nie bestehen, das Gewebe, so rot und leicht blutend es auch sei, sein Bekleidungsepithel an den unversehrten Stellen aufweise, und die sogenannte Cervicitis meistens die Cervixschleimhaut des schwangeren Uterus eher in physiologischem Zustande als in entzündlichem und ulceriertem erscheinen läßt.

Die von Pestalozza beobachtete Tatsache, daß in einer großen Anzahl von Cervicitis die Kontinuität des Bekleidungsepithels bewahrt bleibt, ist bewiesen, und Bossi verneint sie nicht; allein damit ist nicht gesagt, daß es sich nicht auch um eines der verschiedenen Stadien von Cervicitis handeln könne, welche dem Verluste des Epithels vorangehen oder diesem durch spontane Heilung folgen. Bossi zieht in seiner Statistik nicht die einfachen Kongestionen des Halses, wenn auch starke Rötung vorhanden ist, in Betracht, denn sonst wäre der Prozentsatz ein viel höherer; er wollte sie vielmehr unter jene die Cervicitis hervorrufenden Ursachen einreihen. Es muß hervorgehoben werden, daß sich dann, wenn die Cervicitis den Ulzerationsgrad erreicht hat und keine geeignete Kur oder spontane Heilung stattfindet, die schwersten Folgen ergeben. In erster Linie steht der Abort, wodurch hauptsächlich die Diagnose dem Kliniker entgeht.

Im allgemeinen kann man sagen, daß das makroskopische Aussehen der Cervicitis in den verschiedenen Stadien nicht sehr verschieden ist. Man nennt deshalb die vielerlei phlogistischen Alterationen des Uterushalses „Cervicitis, Erosionen“, und da es auch dem freien Auge nicht möglich ist, zu unterscheiden, ob die Oberfläche mit Epithel bekleidet sei oder nicht, besonders bei Entzündung der letzteren, so ist die Erklärung gegeben, daß oftmals von Ulceration gesprochen wird, ohne daß sie im anatomischen Sinne existiert, und ebenso kann eine Cervicitis gering geschätzt werden, während ein wirklicher Eiterungsprozeß besteht.

Die Verschiedenheit der Krankheitsprozesse, welche das gleiche makroskopische Bild darbieten, ist der Grund, daß die Krankheitsursache und das mikroskopische Bild der Läsion nicht gleichzeitig durch ein einziges Wort ausgedrückt werden kann. Die verschiedensten Ursachen sind im stände, das makroskopische Aussehen in dem einen oder dem anderen Stadium als ein gleiches erscheinen zu lassen. Die Bezeichnung „Cervicitis, Erosion“ gibt uns die Idee des Bildes der Verletzung, aber seine Natur erklärt sie uns nicht; oft begegnet man solch irrigen Benennungen, und Bossi schlug daher auf dem erwähnten Kongresse die Einteilung der verschiedenen, die Schwangerschaft komplizierenden Formen von Cervicitis und Endocervicitis in 9 Klassen vor, je nach dem Grade, der Beschaffenheit und Ausdehnung der Läsionen.

Die Ulceration des Halses ist selten; die Diagnose des Grades der anatomischen Läsion des Uterushalses ist jedoch immer schwierig und manchmal mittels der einfachen Untersuchung mit dem Spekulum unmöglich. Der anatomische Zustand des Halses bei Ulceration ist fast identisch mit jenem bei einfacher Entzündung (mit Ausnahme der venerischen und tuberkulösen Geschwüre), allein es fehlt das Epithel, und es beginnt die Zerstörung des darunter liegenden Bindegewebes. Bei einfacher Entzündung zeigt sich schon starke kleinzellige Durchsetzung, Neubildung von Gefäßen, Anschwellung der Kapillaren. Unter dem Epithelium bilden sich Granulationen mit Neubildung zahlreicher Papillen, deren Gefäße vergrößert sind, daher das intensiv rote Aussehen; das Epithel ist jedoch erhalten. Bei diesen Verhältnissen ist der Ausbruch einer Geschwürbildung unschwer zu verstehen, sobald eine Verletzung oder irgend eine Reizung stattfindet. Wenn es sich um einfache und leichte Entzündung handelt, dann ist die Oberfläche ebenfalls stark gerötet, aber das Plattenepithel ist vollständig erhalten; wenn dagegen die Portio vaginalis sich in physiologischem Zustande befindet, können

Kongestionen vorhanden sein, aber keine Gefäßneubildungen oder Hypertrophie der Papillen, und die Oberfläche des Halses hat ihr normales, glänzenden Aussehen.

Größere Schwierigkeiten bietet die Diagnose, wenn sich zur Cervicitis Ektropion gesellt. In diesem Falle ist die Oberfläche nicht nur intensiv gerötet, sondern auch uneben wegen der Ausmündung zahlreicher Drüsen und bietet oftmals das Bild einer ulcerierten Oberfläche dar. Ektropion mit entzündeter Schleimhaut kann das charakteristische und vollständige Aussehen einer Schleimhautulceration hervorrufen. In gewissen Fällen vorgerückter Cervicitis erinnert der makroskopische Anblick der eingerissenen, unebenen und granulierenden Oberfläche sogar an Krebs, und zwar auch wegen der großen Neigung zu bluten.

In Bezug auf die Pathogenese dieser Läsionen des Uterushalses während der Schwangerschaft unterscheidet Bossi in seiner erwähnten Arbeit prädisponierende Ursachen, wie den physiologischen Prolaps des schwangeren Uterus in den ersten Monaten der Schwangerschaft, welcher die Scheide um ein Drittel verkürzt, ferner die bedeutende Hyperämie des Uterus, welche die Oberfläche des Halses brüchiger macht; zufällige Ursachen, wie der Coitus mit seinen durch die außerordentliche Kürze der Scheide bedingten Verletzungen, ungenügende Reinigung etc.

Erwähnter Autor unterscheidet noch überdies die vor der Schwangerschaft bestehende Cervicitis und die während der Schwangerschaft aufgetretene.

Ganz richtig bemerkt er, daß nebst der Feststellung dieser klinischen Ursachen die Ergründung des pathologisch-anatomischen Ursprungs von höchster Wichtigkeit sei, und nachdem er jener Formen erwähnt, deren Charakter genau festgestellt ist, wie die krebsige, tuberkulöse, gonorrhöische etc. Cervicitis, legt er die Frage vor, ob auch die anderen gewöhnlicheren Formen als solche mikrobischer Natur angesehen werden können. Infolgedessen hatte Herr Prof. Bossi die Güte, mich mit der Aufgabe zu betrauen, so viel als möglich ausgedehnte und vollständige Untersuchungen über die bakteriische Flora der Cervicitis während der Schwangerschaft auszuführen.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber das endemische Vorkommen des Krebses beim Tiere.

[Aus dem pathologischen Laboratorium der University of Pennsylvania, Philadelphia.]

Von **Leo Loeb**.

Mit 5 Figuren.

Ueber das endemische Vorkommen des Krebses beim Menschen liegt eine größere Anzahl von Beobachtungen vor, so von Arnaudet, Fiessinger und Noel, Pfeiffer, Sorel; Behla u. a.¹⁾ Auch über ein endemisches Vorkommen des Krebses bei Tieren liegen bereits einige Mitteilungen vor.

1) Literatur siehe bei Burchhardt, Korrespondenzbl. d. Thüringer Aerztevereins. 1894. Behla, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIII. 1898.

1) In der tierärztlichen Zeitschrift, *The Veterinarian*¹⁾, findet sich die folgende Notiz: „Mr. Cooper has forwarded to us an interesting specimen of cancer of the parotid and submaxillary glands and tongue of a cow. A singular circumstance is mentioned by Mr. Cooper, namely that in nine cases which have been brought under his notice, three have occurred on one piece of land, within a mile and a half of Chatteris. He offers no explanation of this fact, which, if not depending upon hereditary causes, is one that requires a full investigation.“ Aus dieser Mitteilung geht nicht hervor, ob die anderen hier erwähnten Fälle von Carcinom beim Rinde ebenfalls Carcinome der Speicheldrüsen und Zunge waren oder ob sie von anderen Körperstellen ihren Ursprung nahmen.

2) Im Verlaufe von Untersuchungen über das Vorkommen von Carcinom beim Rinde, die ich 1898 und 1899 in Verbindung mit G. Jobson in den Stock Yards in Chicago ausführte, fanden wir einen weiteren Fall von endemischem Vorkommen des Krebses bei Tieren²⁾. Der gewöhnliche Sitz des Carcinoms beim Rinde in Nordamerika ist der innere Augenwinkel. Das Carcinom beginnt an der Carunkel oder in deren unmittelbaren Umgebung, also an einer Stelle, wo die in den Konjunktivalsack geratenden Fremdkörper haften bleiben. Krebs kann gelegentlich auch an anderen Stellen des Körpers gefunden werden, ist aber hier viel seltener. Wir fanden nun eine Ranch nahe Cheyenne im Staate Wyoming, wo dieser Augenkrebs endemisch vorkommt. Es werden hier beständig etwa 1000 Rinder gehalten, und da jährlich Tiere die Ranch verließen und neue hinzu kamen, so waren etwa 2000 Tiere jährlich wenigstens während eines Teiles des Jahres auf der Ranch. In den letzten 10 Jahren wurden nun hier jährlich 1—2 Fälle dieses vom Augenwinkel ausgehenden Carcinoms beobachtet. Daß dies ein sehr großer Prozentsatz ist, geht aus der folgenden Zusammenstellung hervor: Im Jahre 1899 wurden 48 Fälle von Carcinom des inneren Augenwinkels beim Rinde gefunden unter 251446 Rindern. Also auf 52375 Rinder kommt im Durchschnitt ein Carcinom des inneren Augenwinkels. Auf der oben genannten Ranch wurde nun in den letzten 10 Jahren durchschnittlich ein Carcinom des inneren Augenwinkels in 1000 Rindern gefunden, also 50mal mehr als der Durchschnitt. Dazu kommt, daß die umliegenden Rinderzüchtereien vom Carcinom frei waren. Bemerkenswert ist in diesem Falle die Gleichartigkeit der malignen Tumoren bei allen Tieren in Bezug auf Charakter und Sitz. In einem Falle, der in Chicago zur Beobachtung kam (aber nicht von dieser Farm stammte), waren sogar beide inneren Augenwinkel vom Carcinom befallen. Es ist wahrscheinlich, daß derselbe äußere Faktor, der Carcinom verursacht, in diesem Falle gleichzeitig bei beiden Augen wirksam war.

Wir sehen also, daß Endemien von Krebs bei Tieren vorkommen, die während eines großen Teiles des Jahres im Freien leben, und daß eine solche Endemie auf einen relativ kleinen Bezirk beschränkt sein kann. — Nun wurde aber eine Reihe weiterer Krebsendemien bei kleineren Tieren, die in Käfigen gehalten wurden, beobachtet.

3) Eine solche Mitteilung findet sich bei Hanau³⁾. Er fand eine weiße Ratte mit einem Carcinom der Vulva, mit dem er seine bekannten

1) Vol. XLII. p. 518. London 1869.

2) On carcinoma in cattle. (*Medicine*. 1900. April.)

3) *Fortschr. d. Med.* Bd. VII. 1899.

erfolgreichen Transplantationen vornahm. Er gibt nun an, daß schon vorher 2 Ratten mit Cancroid der Haut der Sexualorgane oder deren Umgebung in dem Züricher pathologischen Institute gefunden worden waren und daß alle Ratten dieses Institutes von 4 Tieren abstammten, Diese 3 Fälle von Cancroid bei Ratten waren die einzigen Carcinomfälle, die in mehr als 100 Ratten im Laufe von 6 Jahren im Züricher Institute beobachtet wurden. Ich hielt während mehrerer Jahre einige 100 Ratten, und zwar jede während mehrerer Monate unter Beobachtung und sah außer den später zu besprechenden Thyreoidealtumoren nur zwei andere maligne Geschwülste, erstens ein wahrscheinlich von den Hautdrüsen ausgehendes Carcinom am Kopfe und zweitens ein vermutlich aus dem Pankreas hervorgegangenes Carcinom der Bauchhöhle. Der Befund von 3 am hinteren Körperende an oder nahe der Vulva befindlichen Cancroiden, welche in einer Anzahl von 100 Ratten gefunden wurden, ist also ein ganz ungewöhnliches Vorkommnis.

4) Sehr bemerkenswerte Angaben machte kürzlich Borrel¹⁾ über gehäuftes Vorkommen von Carcinomen bei weißen Mäusen. Er fand einen Platz, an dem weiße Mäuse gezüchtet wurden, und wo im Laufe von 2 Jahren unter ungefähr 200 Mäusen mehr als 20 Mäuse mit Tumoren beobachtet worden waren. Alle Mäuse hatten in demselben Käfig gelebt und waren auch vermutlich alle in diesem Käfig geboren worden. Borrel erwähnt ferner, daß Giard eine relativ große Anzahl von mit Tumoren behafteten Mäusen beobachtet hat. In einem dritten Falle beobachtete Borrel im Laufe eines Jahres in einem Käfig, in welchem weiße Mäuse gehalten wurden, 5 oder 6 carcinomatöse Tiere. In vielen anderen Käfigen, die oft eine viel größere Anzahl von Mäusen enthielten, hatte dieser Autor niemals einen Fall von Krebs in Mäusen beobachtet. Die Tumoren, die unter den Mäusen in einem der Käfige gefunden wurden und welche Borrel zu seinen Versuchen diente, waren alle sehr ähnlich; sie waren alle von den Hautdrüsen ausgehende Carcinome, welche schnell Lymphdrüsenmetastasen machten. Auch Lungenmetastasen kamen vor. Diese Tumoren haben der Beschreibung nach viel Aehnlichkeit mit dem Carcinom, welches Jensen zu seinen Transplantationen benutzte.

5) Ich selbst habe in den letzten 4 Jahren experimentelle Untersuchungen über Uebertragung und Wachstum von Sarkomen in weißen Ratten angestellt²⁾. Zu diesen Versuchen verwandte ich zwei cystische Sarkome, welche sich spontan in der Thyreoidea von weißen Ratten gebildet hatten, und ferner ein nicht cystisches Sarkom, welches den größeren Teil eines carcino-sarkomatösen Mischtumors der Thyreoidea ausmachte. Die beiden Ratten mit den cystischen Sarkomen der Thyreoidea stammten aus dem pathologischen Laboratorium der Poliklinik in Chicago, die Ratte mit dem Mischtumor der Thyreoidea stammte aus Iowa. Nun wurde im vergangenen Jahre (1903) in dem Laboratorium der Chicagoer Poliklinik eine dritte Ratte mit einem Tumor der Thyreoidea gefunden³⁾. Der Tumor war wieder cystisch wie die Sarkome der beiden früheren in demselben Laboratorium gefundenen Ratten. Diese Ratten waren in demselben Laboratorium aufgewachsen und

1) Borrel, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XVII. 1903.

2) Vergl. Journ. of med. research. Vol. VI. 1901; Vol. VIII. 1902. Virchows Arch. Bd. CLXVII. 1902; Bd. CLXXII. 1903.

3) Herr Dr. M. Herzog überließ mir in freundlichster Weise diesen Tumor zur Untersuchung.

wurden in 3 oder 4 dicht zusammengefügt Käfigen gehalten; die Ratten wurden bald in dem einen, bald in einem anderen dieser Käfige gehalten.

Die erste dieser Ratten, welche mit einem cystischen Sarkom der Thyreoidea behaftet war, wurde ungefähr im Januar 1900 in dem Laboratorium der Poliklinik gefunden. Der Tumor wurde exstirpiert, aber bald nach der Operation traten Metastasen an verschiedenen Stellen am Halse auf und das Tier starb kurze Zeit darauf. Bis Ende August 1901 wurde dieser Tumor durch successive Operation auf viele Ratten übertragen, im ganzen auf etwa 40 Generationen. Gegen Ende der Versuchsreihe wurden die Tumoren durch Bakterien infiziert. Ueberschritt die bakterielle Infektion nicht ein gewisses Maß, so konnten noch von solchen infizierten Tumoren Stücke erfolgreich übertragen werden; war die Infektion sehr stark, so blieb die Transplantation erfolglos. Es bildete sich im letzteren Falle um das implantierte Tumorstück eine oft dicke Bindegewebskapsel, wie man sie nach Implantation von verschiedenartigem Material in ein Tier beobachten kann; aber eine Tumorbildung fand nicht statt. Diese Ratten, in welche Tumoren transplantiert worden waren, wurden nicht im Laboratorium der Poliklinik gehalten. Nur im Anfang der Versuche hatten solche Tiere eine Zeit lang in Käfigen der Poliklinik sich befunden.

Im November 1901 erhielt ich die Ratte mit dem Misch tumor, einem Adenocarcinom und Sarkom der Thyreoidea. Diese Ratte starb während der zur Exstirpation ihres Tumors, der die größeren Halsgefäße und Nerven infiltriert hatte, vorgenommenen Operation. Das Tier war immer außerhalb des Laboratoriums der Poliklinik gehalten worden. Dasselbe gilt für die vielen Ratten, in welche Sarkomstücke dieses Tumors erfolgreich übertragen worden waren. Die Ratte, in welche die letzte Transplantation des sarkomatösen Teiles dieses Misch tumors vorgenommen wurde, starb in der ersten Hälfte des Sommers 1902.

Ungefähr im November 1901 wurde nun in dem Laboratorium der Poliklinik in denselben Käfigen die zweite Ratte mit einem cystischen Sarkom der Thyreoidea gefunden. Zu der Zeit also, wo dieser Tumor zuerst beobachtet wurde, waren alle mit Tumor behafteten Ratten schon lange aus der Poliklinik entfernt worden. Es entwickelte sich bei dieser Ratte eine Metastase in der Inguinalgegend, die denselben Charakter zeigte wie der ursprüngliche Tumor. Das Tier starb während der folgenden Monate. Tumorstücke wurden erfolgreich eine Reihe von Generationen hindurch in andere Ratten transplantiert. Die Ratten mit transplantierten Tumoren wurden teils im Laboratorium der Poliklinik, teils anderswo gehalten. Im Oktober 1902 starb die letzte Ratte, in der ein transplan tierter Tumor sich entwickelt hatte. Von nun an bis zum Herbst 1903 war die Poliklinik völlig frei von tumortragenden Ratten.

Im Herbst 1903, also ein Jahr später, wird nun die dritte Ratte mit einem cystischen Sarkom der Thyreoidea in einem derselben Käfige gefunden. Es war dies eine alte männliche Ratte¹⁾. Bei der Sektion dieser Ratte fand sich ausgedehnte Metastasenbildung in der Lunge. Diese Metastasen trugen denselben Charakter wie der ursprüngliche Tumor.

1) Auf meine Bitte nahm Herr Dr. Herzog Transplantationen von Tumorstücken in zwei junge weiße Ratten vor. Beide Transplantationen waren ohne Erfolg; dieser Mißerfolg wurde nicht durch mangelhafte Technik verschuldet, da Herr Dr. Herzog ähnliche Tumoren früher erfolgreich transplantiert hatte.

Welche Faktoren verursachen nun den Befund von drei cystischen Sarkomen der Thyreoidea in einer relativ geringen Zahl von weißen Ratten in wenigen Käfigen eines Laboratoriums?

Von einigen früheren Autoren, die das endemische Vorkommen des Krebses beim Menschen beschrieben, wurde besonders darauf hingewiesen, daß Endemien längs Flußläufen und in waldiger Gegend beobachtet wurden. Sie führen das gehäufte Vorkommen auf tierische oder pflanzliche Mikroorganismen zurück, die in solchen Gegenden verbreitet waren. Ein solches Moment könnte bei den bei Rindern beobachteten Krebsendemien in Betracht kommen; es wäre aber kaum anwendbar auf die bei in Käfigen lebenden Ratten und Mäusen beobachteten Krebsendemien. Die Ratten in der Chicagoer Poliklinik wurden mit den Speiseresten aus der Küche des mit dem Laboratorium in Verbindung stehenden Hospitals gefüttert. Es ist daher nicht wahrscheinlich, daß durch die Speisen ein Parasit in den Verdauungskanal eingeführt wurde. Ich habe ferner während meiner Versuche Ratten, die in anderen Laboratorien gehalten wurden, wiederholt mit exstirpierten Stücken transplanterter Rattensarkome gefüttert, ohne daß dadurch jemals ein Sarkom hervorgerufen wurde. Es ist auch nicht wahrscheinlich, daß ein bestimmter Mikroorganismus, der in dem Laboratorium vorhanden war, die Ratten infizierte. Die Käfige, in denen die Ratten lebten, waren mit Metall ausgelegt und wurden regelmäßig gereinigt. Es bliebe die Möglichkeit einer von Ratte zu Ratte übertragenen Infektion. Dagegen spricht aber die Tatsache, daß diese Tumoren anscheinend entstanden, lange, nachdem die anderen tumortragenden Ratten gestorben waren. Es müßte also eine sehr lange Inkubationszeit für die sich bildenden Tumoren vorhanden gewesen sein. Dagegen spricht aber auch die Tatsache, daß niemals eine der vielen Ratten, die mit Tieren, in welchen transplantierte Tumoren wuchsen, zusammenlebten, durch dieses Zusammenleben in einem anderen Laboratorium infiziert wurde.

Es ist eine auffallende Tatsache, daß in den verschiedenen Krebsendemien, die bei Tieren beobachtet wurden, die Tumoren in den einzelnen Fällen den gleichen Charakter hatten. Die Carcinome, die beim Rinde in Wyoming gefunden wurden, trugen alle den von mir früher beschriebenen Charakter und gingen vom inneren Augenwinkel aus. In dem Falle Hanaus handelte es sich bei Ratten um von der Vulva oder deren Nachbarschaft ausgehende Cancroide. Bei Borrels Mäusen lagen von den Hautdrüsen ausgehende Carcinome vor. In den hier mitgeteilten Fällen handelt es sich um cystische Sarkome der Thyreoidea von Ratten. Das eine Thyreoidealsarkom, das etwas anders beschaffen war und das keine Cysten enthielt, entstammte dementsprechend einer Ratte, die in einem anderen Laboratorium aufgewachsen war. Die makroskopische und mikroskopische Gleichartigkeit der Tumoren schließt einen Zufall in diesen Befunden von gehäuftem Vorkommen von malignen Tumoren aus. Sie weist darauf hin, daß eine bestimmte Ursache in allen diesen Fällen wirksam war.

Die Gleichartigkeit der an einem Orte gefundenen Tumoren trat besonders in den vorgenommenen Transplantationen zu Tage. Die resultierenden Tumoren hatten innerhalb einer gewissen Variationsbreite immer wieder denselben Charakter wie der ursprüngliche Tumor. Auch war das Verhalten der Tumorzellen zu verschiedenen Zeiten der Transplantation das gleiche, wie z. B. im Falle der Thyreoidealsarkome in

Bezug auf das Fehlen einer Latenzzeit im Wachstum, in Bezug auf die Schnelligkeit des Wachstums, in Bezug auf die zu Cystenbildung führenden Verflüssigungsvorgänge, in Bezug auf die Nekrose der zentralen, das Erhaltenbleiben der peripheren Teile der transplantierten Stücke; ebenso waren andere Charaktere in den ursprünglichen und in den transplantierten Tumoren konstant, wie dies in den früheren Mitteilungen beschrieben wurde.

Diese Gleichartigkeit in den aus dem Laboratorium der Poliklinik stammenden Tumoren kommt in den beigegebenen Zeichnungen zum Ausdruck. Abbildungen des ersten Thyreoidealtumors, sowie der durch Transplantation dieses Tumors in andere Ratten produzierten Tumoren

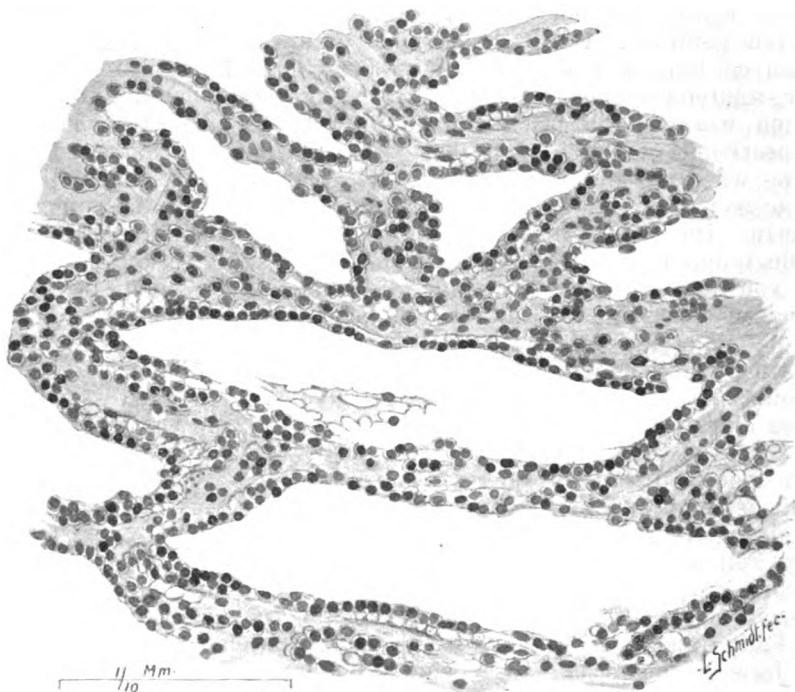


Fig. 1.

finden sich in Virchows Archiv. Bd. CLXVII. Die Struktur der dort abgebildeten Tumoren ist im wesentlichen dieselbe, wie die in den folgenden Abbildungen reproduzierte Struktur der späteren Tumoren. Fig. 1 (in Virchows Archiv) zeigt einen Schnitt durch das ursprüngliche erste Sarkom der Thyreoidea, Fig. 2 (Virchows Arch.) zeigt den gewöhnlichen Charakter der transplantierten Tumoren, der dem der ursprünglichen Tumoren gleicht. Der hier abgebildete Schnitt durch die Inguinaldrüsenmetastase des zweiten Thyreoidealsarkoms (Fig. 1) zeigt den cystischen Charakter des Tumors. Fig. 2 zeigt einen durch Uebertragung nach mehrfachen Transplantationen in einer Ratte erzeugten Tumor; derselbe zeigt ganz denselben Charakter wie der ursprüngliche Tumor; dieselbe Cystenbildung und die guirlandenartigen Züge erhaltenen Tumorgewebes sind deutlich. Der Charakter der Tumorzellen

und Cysten ist der gleiche wie der des ersten Thyreoidealtumors. Fig. 3 zeigt einen Schnitt durch die Lungenmetastase des dritten in dem Laboratorium der Poliklinik gefundenen Thyreoidealtumors¹⁾. Der Cha-



rakter des Tumors, die Cysten und die guirlandenartige Anordnung des erhaltenen Gewebes tritt hier ebenso deutlich hervor, wie in den beiden ersten Tumoren. Hingegen zeigen Fig. 4 und 5 den Charakter des Sarkoms, welches in der mit dem Misch tumor der Thyreoidea behafteten

¹⁾ Die Zeichnung ist bei 5fach schwächerer Vergrößerung hergestellt als Fig. 1 und 2.

Ratte gefunden wurde. Diese Ratte war, wie erwähnt, in einem anderen Laboratorium aufgewachsen. Der Charakter des Tumors ist dementsprechend verschieden. Es tritt hier die derbere Struktur der Inter-cellularsubstanz hervor; ferner sind die Zellen mehr spindelförmig, Cysten sind nicht vorhanden. Fig. 4 zeigt einen Schnitt durch den ur-



Fig. 3.

sprünglichen Tumor, Fig. 5 zeigt denselben Charakter in einem in einer anderen Ratte durch Transplantation erzeugten Tumor.

Doch ist es notwendig, gewisse geringe Unterschiede, die zwischen den 3 Tumoren bestanden, zu erwähnen. Im ersten Sarkom waren die die Cysten begrenzenden Zellen meist ein wenig größer als im zweiten. In von dem ersten Tumor durch Transplantation erhaltenen Tumoren wurden in 2 Fällen Variationen beobachtet, die die Tumorstruktur der eines Endothelioms ähnlich machten. Solche Variationen wurden in

dem zweiten Tumor nicht beobachtet. Im Verlaufe der aus dem ersten Tumor vorgenommenen Uebertragungen wurden lokale Metastasen und Kontaktmetastasen viel häufiger beobachtet, wie bei den aus dem zweiten Sarkom vorgenommenen Uebertragungen. Bei dem ersten Sarkom gelang es in entsprechender Weise in einer Anzahl von Fällen durch bloße Injektion von Cystensaft Tumoren in anderen Tieren hervorzurufen, was im Verlaufe der mit dem zweiten Tumor vorgenommenen Uebertragungen nicht gelang. Doch kam es auch hier, wenn auch selten, vor, daß einmaliger Kontakt eines Tumors, z. B. Berührung des subkutanen Gewebes der Bauchhaut bei Einführung eines Stückes in die Peritonealhöhle, genügte, um einen Tumor zu produzieren. Es ist also ein langdauernder Kontakt nicht nötig, um einen Tumor hervorzubringen. Bei dem dritten Tumor, der dieselbe Struktur hatte wie die beiden ersten, gelang eine Transplantation überhaupt nicht. Eine solche wurde allerdings nur bei

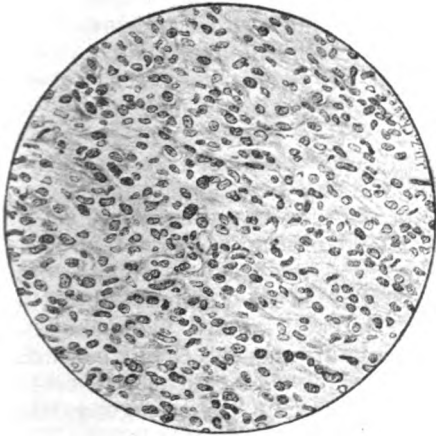


Fig. 4.

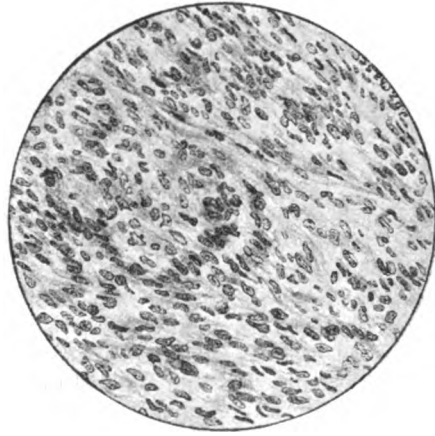


Fig. 5.

3 Tieren versucht, aber in den beiden ersten Transplantationsserien war die Zahl der erfolgreichen Transplantationen eine sehr große. Es liegt nahe, an durchgreifende Unterschiede zwischen Tumoren zu denken, je nachdem sie übertragbar sind oder nicht. Aber die hier angeführte Erfahrung, sowie z. B. die Tatsache, daß in dem Falle des zweiten Sarkoms Transplantationen, die mit dem ursprünglichen Thyreoidealsarkom vorgenommen wurden, erfolgreich waren, daß solche hingegen, zu denen die Inguinalmetastase verwandt wurde, nicht erfolgreich waren, weisen darauf hin, daß oft nebensächliche Umstände die Uebertragungsmöglichkeit eines Tumors bestimmen.

Die hier angeführten kleinen Verschiedenheiten zwischen den Sarkomen blieben nun auch konstant während der auf viele Tiere vorgenommenen Uebertragungen.

Wenn also die mitgeteilten Beobachtungen über Krebsendemien keinen direkten Anhaltspunkt für eine Infektionsquelle ergeben, so ist es andererseits auch nicht möglich, ein der Endemie zu Grunde liegendes gemeinsames infektiöses Agens auszuschließen; es könnte in dem Trinkwasser, oder in den die Käfige bedeckenden Sägespänen oder Sägemehl

vorhanden gewesen sein. Wohl aber können wir aus diesen Beobachtungen, ebenso wie aus den Uebertragungsversuchen indirekte Schlüsse auf den Charakter eines möglichen Organismus, der der Tumorbildung zu Grunde liegt, ziehen. Es scheint mir, daß, falls eine parasitäre Infektion vorliegt, die hier mitgeteilten Beobachtungen fast mit Sicherheit darauf hinweisen, daß verschiedenartige Tumoren, wie die in den von Hanau, Borrel und in den von mir beobachteten Endemien vorliegenden, durch verschiedenartige Mikroorganismen verursacht werden. Anders wäre der gleichartige Charakter der Tumoren in den verschiedenen Tieren nicht zu erklären. Es ist kaum denkbar, daß einmal ein und derselbe Parasit bei allen Ratten Vulvacarcinome hervorbringt und ein anderes Mal Thyreoidealsarkome. Auch die Drüsencarcinome der Mäuse und die Augencarcinome der Rinder müssen durch verschiedenartige Mikroorganismen bedingt worden sein. In ähnlicher Weise erhielten wir durch die Transplantationsversuche gewisse Anhaltspunkte über den Charakter eines supponierten Infektionserregers. Diese Versuche engten das Feld von etwa in Betracht kommenden Mikroorganismen wesentlich ein. Sie sprechen gegen die Bedeutung von Organismen, die sich ähnlich den Blastomyceten oder Tuberkelbacillen verhalten, sie schließen durch Berkefeld-Filter filtrierbare, außerhalb von Zellen lebende und ferner gegen Abkühlung empfindliche Organismen aus. Sie zeigen auch, daß hyaline Gebilde, wie man sie in Sarkomstücken finden kann, die lange Zeit in luftdicht verschlossenen Glasröhren gehalten wurden, nicht im stande sind, Tumorbildung zu bewirken, auch wenn sie in dieselbe Tierart injiziert werden, in der der ursprüngliche Tumor beobachtet wurde. Sie schließen aber nicht ultramikroskopische oder sehr kleine innerhalb der Zellen lebende Parasiten aus und solche, die größer sind und etwa außerhalb von Zellen leben können, aber in fixierten Schnitten unsichtbar sind. Ein Moment könnte vielleicht zu Gunsten des Vorhandenseins eines Mikroorganismus sprechen, nämlich die Tatsache, daß das Wachstum eines transplantierten Stückes bei einer Temperatur aufgehoben wird, welche die erfolgreiche Uebertragung von normalem Gewebe wie Epithel noch zuläßt. Erhitzen eines Tumorstückes auf 45° während einer halben Stunde vernichtet die Fähigkeit eines transplantierten Tumorstückes, wieder tumorartig zu wachsen. Daß dieses, ebenso wie andere Ergebnisse der Prüfung der Resistenzfähigkeit ausgeschnittener Tumorstücke, nicht nur für Sarkome gelten, die meinen Versuchen zu Grunde lagen¹⁾, sondern daß für Carcinome ganz ähnliche Wachstumsgrenzen bestehen, zeigte Jensen²⁾. Doch ist noch eine andere Deutung dieser Ergebnisse möglich, nämlich die, daß die tumorartig wachsenden Zellen gegen Temperaturerhöhung empfindlicher sind wie die gewöhnlichen Zellen, oder daß Zellen die Fähigkeit, derart zu proliferieren, daß Tumoren entstehen, schon bei einer geringeren Erwärmung verlieren, wie die Fähigkeit, nach Transplantation nur so weit zu wachsen, wie gewöhnliche Gewebe es tun.

Doch ist das Vorhandensein eines gemeinschaftlichen infektiösen Agens nicht die einzige Erklärungsmöglichkeit dieser Tumorendemien bei Tieren und des gleichartigen Charakters der in den einzelnen Endemien gefundenen Tumoren. Es liegt die Möglichkeit des Vorhandenseins eines hereditären Einflusses vor. Die Ratten der Poliklinik

1) Vergl. Journal of Medical Research. Juni 1902.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. 1903.

wurden mehrere Jahre hindurch von wenigen ursprünglichen Exemplaren gezüchtet; und wenn auch kein Stammbaum der Ratten gehalten wurde, so ist es doch sehr wahrscheinlich, daß die zweite und dritte Sarkomratte direkte Abkömmlinge der ersten Ratte, die einen Tumor hatte, waren, oder wenigstens mit derselben verwandt waren. Das Gleiche gilt für Hanau und Borrel's Fälle. Bei den Rinderendemieen bleibt es unbestimmt.

Nun sprechen anscheinend die Beobachtungen, welche über Tumorendemieen beim Menschen vorliegen, gegen die Heredität als Erklärungsmöglichkeit, da hier familiären Momenten keine Bedeutung zugewiesen wird. Die letzte Untersuchung von Lyon¹⁾ jedoch über ein gehäuftes Vorkommen von Carcinom in Brookfield, im Staate New York, zeigt, daß beim Menschen solche familiären Einflüsse eine große Rolle spielen und genügend sind, das scheinbar endemische Vorkommen zu erklären. Möglicherweise kam auch in den früher beschriebenen Krebsendemieen beim Menschen solchen Faktoren eine größere Bedeutung zu, als von den betreffenden Beobachtern angenommen wurde.

Auf einen Unterschied zwischen den Tumorendemieen beim Menschen und bei Tieren möge hier noch hingewiesen werden: Die hier bei Tieren festgestellte Gleichartigkeit der Tumoren in verschiedenen Endemieen wurde beim Menschen nicht beobachtet. Die endemisch auftretenden Tumoren von Tieren dürften daher auch schon aus diesem Grunde ein günstigeres Untersuchungsobjekt bilden als die des Menschen, abgesehen von der größeren Einfachheit der Lebensbedingungen bei Tieren und der Möglichkeit, diese Lebensbedingungen experimentell zu variieren.

Als wesentlich können wir die Tatsache ansehen, daß in einem oder wenigen (reingehaltenen) Käfigen unter Tieren, die eine gleichmäßige, bekannte, meist gekochte Nahrung erhielten, maligne Tumoren beobachtet wurden, die alle an derselben Körperstelle auftraten und welche dieselbe mikroskopische und makroskopische Struktur besaßen, daß diese Tumoren diesen Charakter der Hauptsache nach in Transplantationen beibehielten, ferner, daß solche Tumoren in Tieren auftraten längere Zeit, nachdem die letzten Tiere, die mit einem solchen Tumor behaftet waren, aus dem Laboratorium entfernt worden waren. Es ergab sich weiterhin, daß auch in den anderen bei Tieren beobachteten Tumorendemieen die in einer Endemie beobachteten Tumoren ungefähr dieselbe Struktur und denselben Sitz hatten, während dies in den bei Menschen beobachteten Endemieen nicht der Fall war. Zusammenleben solcher mit transplantierten Tumoren behafteten Tiere mit gesunden Tieren in anderen Laboratorien führte bisher nicht zu einer Tumorneubildung, ebenso wenig bewirkte Verfütterung der frischen Tumoren in den hier beobachteten Fällen eine Tumorbildung. Es ergab sich die Möglichkeit, daß ein hereditärer Faktor diesen Endemieen zu Grunde liegt. Falls aber ein infektiöses Agens solchen Endemieen zu Grunde liegen sollte, machen die hier mitgeteilten Tatsachen es sehr wahrscheinlich, daß durch Struktur und Sitz verschiedene Tumoren durch verschiedene Mikroorganismen hervorgerufen werden.

1) Lyon, J. P., Statistical study of a rural cancer district etc. (II report of the cancer Laboratory of the New York States Board of Health. 1903.)

Nachdruck verboten.

Resistance against Rinderpest and other infectious diseases conferred by the subcutaneous injection of certain bile products and also by the injection of substances prepared from animal testes and the seeds of plants.

By Prof. Alfred Lingard, M. B.,
Imperial Bacteriologist to the Government of India.

In the following paper it is my intention to place on record an account of the principal results of experiments concerning the immunisation of cattle against rinderpest, which I conducted during the years 1900—1903, in my Himalayan Laboratory at Muktesar.

I.

The number of cattle (bulls) utilized in these experiments amounted to some 1550 head.

It must be understood that the various breeds of cattle, hill bovines, hill buffaloes and plain bovines exhibit varying degrees of protection against rinderpest and that plain animals can be easily immunized by Koch's general bile method. On the other hand hill cattle cannot be protected by this method.

When bile was collected from healthy normal cattle and Almen's¹⁾ reagent added, a small precipitate resulted. When the bile of cattle was utilized from animals which had previously been inoculated subcutaneously with virulent rinderpest blood, it was observed that there was increased precipitation.

Taking the average percentage of the precipitate in the bile of healthy animals as a unit, on the

5th day of the disease	there were about	28 units.
6 " " " " "	" " " "	63 "
8 " " " " "	" " " "	115 "
11 " " " " "	" " " "	133 "

In animals which survived the injection of virulent blood to a later date, their bile showed from about the 13th day of the disease a marked decrease in the amount of precipitate. If an animal survived a longer period the precipitate gradually returned to almost the normal.

Similar bile precipitates but in smaller quantities were obtained when Almen's reagent was added to the bile of cattle which had been

1) Almen's tannin solution is composed as follows:

Tannin 5 grammes,
25 per cent acetic acid 10 ccm,
40 to 50 per cent ethyl alcohol 240 ccm.

Ten cubic-centimetres of the bile under examination were taken in every case, and added slowly to 40 ccm each of saturated salt solution and Almen's tannin solution. After precipitation each specimen was allowed to stand for a period of 20 to 24 hours. Later the fluid was filtered through a previously dried and weighed filter paper. The precipitate was in each instance thoroughly washed with distilled water (350 ccm) to free it from the NaCl, and then washed with boiling alcohol (100 ccm) to get rid of the tannin.

Later the filter paper containing the precipitate was dried and heated for 4 hours at 40° C and then weighed.

In cases of doubt several samples were submitted to examination and the mean of the resultant weights utilized for the purpose of the research.

inoculated with Anthrax or Haemorrhagic¹⁾ Septicaemia or to that of hill and plain cattle and buffaloes which had succumbed to Gastro-Enteritis.

I found that the bile precipitate in cattle which had been inoculated with rinderpest blood, when carefully washed and dissolved in a 1% Sodium carbonate solution neutralized the virus of rinderpest blood when it was exposed for several hours "in vitro".

Hill buffaloes injected with a sufficient quantity of the soda solution of bile precipitate, prepared in the above manner, when tested ten days later, with virulent rinderpest blood, were found to have received protection.

A fact of importance was elicited that plain cattle could with certainty be protected against the subcutaneous injection of virulent rinderpest blood.

a) Repeated subcutaneous injections of normal bile, say 50 ccm¹⁾ after intervals of a few days on four occasions.

b) By a soda solution of the precipitate obtained from normal bovine bile by Almen's re-agent.

Normal bile mixed with rinderpest blood in equal²⁾ parts, neutralized the virus of that disease when allowed to remain in contact "in vitro" during a period of two hours.

II.

In a series of experiments undertaken to obtain similar protective extracts from other organic substances such as, milk, yolk of egg, fish sperm and spawn, cell protoplasm, mucin, and vegetable seeds and yeasts, the best results were obtained by experimenting with the testes of cattle and the seeds of plants.

The results of these experiments may be grouped under two headings, A — Testes and B — Seeds (vegetables).

A.

1) Testes were minced and an aqueous solution was extracted from them. This was filtered, and the filtrate was precipitated by Acetic Acid. The precipitate was collected and washed thoroughly, it was then dissolved in a 1% Sodium Carbonate solution and injected into Hill Cattle. Result: No resistance was conferred against virulent rinderpest blood by these injections.

2) The same substance was injected into plains cattle. Result. Resistance against virulent rinderpest blood was conferred thereby.

3) The serum of hill Cattle which had been repeatedly treated with the precipitate obtained from testes, conferred no resistance when subcutaneously injected into Hill bulls.

4) The serum of Plains Cattle treated the same as in No. 3, when subcutaneously injected in hill Cattle, which are the most susceptible breed, conferred on them resistance to virulent rinderpest blood. For instance a hill bull received 2500 ccm serum from a healthy plains' bull and at the same time an injection of virulent rinderpest blood. Result: Death.

Another hill Bull was injected with 120 ccm of serum from the

1) Barbone-Metaxa.

2) The quantity varies in different samples of bile according to the amount of precipitate each respectively contains.

same plains bull which had been sometime prior to bleeding subcutaneously injected with testes precipitate.

The hill bull at the time of the injection with serum also received virulent rinderpest blood. Result: Slight thermal re-action, recovery.

B.

The seeds of a large variety of pumpkin (Kürbis) grown at an elevation of from 5000 to 7000 ft. were utilized. The outer coat of the seeds was removed. The seeds were then ground and a solution made. This was filtered and a precipitate collected, after the addition of acetic acid. The precipitate was washed and made soluble in a 1% sodium carbonate solution. Similar experiments were then conducted as under A 1, 2, and 4 and with somewhat similar results.

Very remarkable results were obtained in a series of experiments in which I tried to immunize Cattle against Anthrax and monkeys against Plague, by injecting them with the serum of plains cattle which had been treated with the acetic acid precipitate from testes. The animals experimented on in this way survived the injection of virulent Anthrax or human Plague cultures.

The experiments with Anthrax and Plague were not very numerous, while those with virulent rinderpest blood in cattle were conducted in much greater numbers but the results are perfectly reliable.

An interesting and important fact was elicited, viz: That a resistance can be conferred on plains and hill cattle against Haemorrhagic Septicaemia when they are injected intravenously with serum after the method of B 4. On the other hand it was found impossible to bring about a like resistance after the use of serum prepared after the method of A 4.

It is interesting to note that as might have been expected the above mentioned complex precipitates could not be replaced by substances like lecithin, nuclein and glycono-phosphoric Acid. Further the serum of plains cattle obtained from animals previously injected for long periods respectively with, glycono-phosphoric acid, paranucleoprotein, casinogen, yolk of egg substances, and Castor Seed precipitate, also failed to bring about any resistance in hill Cattle against rinderpest.

Therefore it would appear that in all such experiments in which resistance against rinderpest etc. is brought about, the effect is connected with an organic, complex substance.

Ich hatte kürzlich Gelegenheit, über die prinzipiellen Resultate meiner Versuche mit Prof. Ehrlich zu sprechen, und es war mir eine große Genugtuung, daß dieselben mit den von Prof. Ehrlich niedergelegten und so vielfach akzeptierten Anschauungen aufs beste harmonieren, nach denen parasitenfeindliche Häptine auch durch indifferente Substanzen, z. B. solche vom Typus von bestimmten Nährstoffen, aufgelöst werden können.

Nachdruck verboten.

Zur Mikrobiologie der Masern.

[Aus der Klinik für Infektionskrankheiten d. kais. militärmedizin.
Akademie zu St. Petersburg (Prof. N. Tschistowitsch).]

Von S. J. Zlatogoroff, Privatdozent.

Vorläufige Mitteilung.

Der Infektionserreger der Masern ist bis jetzt noch nicht mit Sicherheit festgestellt und hat überhaupt im Vergleich zu den Erregern anderer Krankheiten viel zu wenig Beachtung gefunden. Aus den spärlichen Veröffentlichungen, welche dieser Frage gewidmet sind, geht hervor, daß als Infektionserreger der Masern Mikroorganismen bald tierischer (Zooparasiten, Doehle und Behla), bald pflanzlicher Abstammung (Bakterien, Canon und Pielicke, Giarré und Picchi, Tschaikowsky, Grigorjeff, Arsamasskoff, Kulescha) gefunden wurden. Von diesen Mikroorganismen verdient der von Canon und Pielicke und zugleich und unabhängig von diesen von Tschaikowsky (1892) als beständiger Befund bei Masernkranken in verschiedenen Epidemien beschriebene Bacillus hervorgehoben zu werden. Jedoch bezweifeln Josias, Laveran und Warschawsky, welche die Untersuchungen der obengenannten Autoren nachgeprüft haben, den Zusammenhang zwischen diesen Mikroorganismen und der Masernerkrankung, trotzdem Tschaikowsky im Jahre 1895 sein Stäbchen in einer neuen Reihe von Masernfällen nachweisen konnte. Deshalb muß die Frage bis jetzt als offenstehend betrachtet werden und es schien mir die Mikrobiologie der Masern des Studiums wert. Dank der liebenswürdigen Genehmigung von Herrn Prof. N. Tschistowitsch konnte ich im Verlaufe des vergangenen Winters ca. 30 Masernkranke bakteriologisch untersuchen; zur Kontrolle stellte ich ebenfalls bakteriologische Untersuchungen an mehreren vollständig gesunden, sowie mit anderen Infektionskrankheiten (Scharlach, Windpocken, Unterleibstypus) behafteten Subjekten an. Als Material zur bakteriologischen Untersuchung dienten das Sekret der Conjunctiva, der Nasenschleim und das Blut. Die betreffenden Substrate wurden im lebenden Zustande, sowie in Streichpräparaten untersucht, sodann wurden Kulturen auf flüssigen und festen Nährmedien angelegt. Tieren (weißen Mäusen, Kaninchen und Meerschweinchen) wurden sowohl die gewonnenen Kulturen, als auch das Blut der Kranken einverleibt.

Einige Versuche erwiesen, daß als passendste Periode für die Aussaat das Stadium floritionis bei hoher Temperatur und scharf ausgeprägten katarrhalischen Erscheinungen zu wählen ist. Ausgesät wurde sowohl auf gewöhnliche Nährmedien mit Glycerinzusatz, als auch auf speziell zu diesem Zweck aus frischer Placenta (oder Lungen des Menschen) mit Zusatz von Ascitesflüssigkeit, Placentablut und Venenblut des Menschen zubereitete. Als für meine Zwecke tauglich erwiesen sich nur diese letzteren speziellen Nährmedien.

Die Aussaaten aus dem Nasenschleim ergaben eine reichliche Flora verschiedenartiger Mikroorganismen, unter denen ich nur ein einziges Mal ein Stäbchen sah, das dem aus dem Blute der Kranken und namentlich aus dem Conjunctivasekret ausgeschiedenen ähnlich sah.

Aus dem Sekret der Conjunctiva wuchs gewöhnlich das Xerosestäbchen, sowie ein diesem sehr ähnliches, welches jedoch kleiner, wenig lebensfähig war und auf Nährmedien sehr kümmerlich, zudem nur bei 35—37° C gedieh. Dasselbe färbt sich nach Gram, ist unbeweglich, nicht sporenbildend und zeigt auf Nährmedien ein im Vergleich zum Xerosestäbchen sehr spärliches Wachstum. Tieren gegenüber ist es sehr wenig virulent. Am interessantesten und bestimmtesten waren die Ergebnisse der bakteriologischen Blutuntersuchung (es wurde ca. 1 ccm Blut auf ein großes Quantum Nährflüssigkeit, 25—150 ccm verimpft). Aus 24 Masernfällen¹⁾, welche, wie oben erwähnt, auf der Höhe des Krankheitsprozesses untersucht wurden, konnte 17mal auf flüssigen Nährmedien ein Bacillus gezüchtet werden, dessen charakteristische Merkmale folgende sind: Seine Länge beträgt 0,4—0,7 μ , seine Dicke 0,2—0,3—0,4 μ . Er läßt sich mit Anilinfarben, sowie nach Gram leicht färben, ist wenig beweglich, liegt gewöhnlich in Doppel-exemplaren oder in Gruppen in Form von Zoogleen da. Die Enden des Stäbchens sind abgerundet und färben sich oft intensiver, als der mittlere Teil. Während die Länge des Stäbchens 0,7—0,8 μ nie übersteigt, ist seine Breite eine verschiedene, so daß der Bacillus zuweilen fast kokkenrund ist. In flüssigen Nährmedien beginnt das Wachstum des Bacillus bereits nach 2 Tagen; es bildet sich am Boden des Gefäßes ein feinflockiger Niederschlag, wobei die Nährflüssigkeit selbst klar bleibt. Der Bacillus gedeiht bei einer Temperatur von 36—37° C am besten, gehört zu den aeroben Mikroorganismen und bildet keine Sporen. Eine Ueberimpfung gelingt nur in der ersten Generation. Auf festen Nährmedien (Agar 1½ Proz. + Ascitesflüssigkeit + Placentablut oder Kalbserum + Placentablut) konnte der Bacillus aus dem Blute derselben Kranken nur 2mal gezüchtet werden. Es bilden sich hierbei Kolonien, welche das Aussehen von kleinen, runden, kaum über die Oberfläche des Nährmediums erhabenen, halbdurchsichtigen, nicht konfluierenden Körnern besitzen; sie werden nach 3—4-tägigem Wachstum im Brutschrank sichtbar. Eine Ueberimpfung gelang in der ersten Generation nur mit einer Kultur. Die Ergebnisse der Tierversuche waren unbeständige. In den einen Fällen blieben die Tiere am Leben, ohne irgendwelche Krankheitserscheinungen zu zeigen, in den anderen gingen sie nach 12—14 Tagen unter Inanitionserscheinungen zu Grunde, wobei bei der Sektion die Mikroben nicht nachzuweisen waren. Auf Streichpräparaten aus dem Blute der Kranken sah ich nur in einigen Fällen (6mal) nach protrahierter Färbung mit Löfflerschem Methylenblau Gruppen (2—3—4 Gruppen auf einem Präparate) von sehr kleinen Stäbchen, welche den eben beschriebenen sehr ähnlich sahen. Gewöhnlich wuchsen in den Fällen, wo die Streichpräparate Anwesenheit der Mikroben zeigten, auch die Kulturen; nur in 2 Fällen fielen die Aussaaten negativ aus, trotzdem ich auf Streichpräparaten den Bacillus nachweisen konnte. Eben solche Gruppen von feinen Stäbchen sah ich auf Streichpräparaten aus dem Nasenschleim (2mal) und aus dem Conjunctivasekret (4mal). Kontrolluntersuchungen des Blutes von gesunden und an anderen Infektionskrankheiten leidenden Subjekten ergaben, was die Gewinnung derartiger Kulturen und die Anwesenheit derartiger Mikroben in den Streichpräparaten anbetrifft, ein negatives Resultat. Indem ich den aus dem Blute von Masernkranken isolierten Bacillus mit dem in dem Nasenschleim und der Con-

1) Genaueres soll hierüber in einer speziellen Veröffentlichung berichtet werden.

junctiva derselben Kranken gefundenen nicht vollständig identifizieren kann, messe ich nur dem ersteren, welcher in sämtlichen Fällen ganz identische Merkmale zeigte, eine Bedeutung zu. Meine weiteren Untersuchungen sollen nachweisen, inwieweit die Masernerkrankung von diesem, etwas an den Masernbacillus der früheren Autoren erinnernden Bacillus abhängen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Bedeutung des Danysz-Dungernschen Kriteriums, nebst Bemerkungen über Prototoxide.

[Aus dem königl. Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M.
(Direktor: Geheimrat Prof. Dr. P. Ehrlich.)]

Von **Hans Sachs.**

Die komplizierten Verhältnisse, welche das durch Ehrlich inaugurierte quantitative Studium der Einwirkung von Antitoxin auf Toxin ergeben hat, stellen noch immer den Gegenstand lebhaften Meinungsaustausches dar. Während Ehrlich durch die Untersuchung der bei der sogenannten partiellen Absättigung erhaltenen Giftkurven und Giftspektren dazu geführt worden ist, speziell dem Diphtheriegift verschiedene Giftkomponenten zu vindizieren, nimmt Bordet ein einheitliches Toxinmolekül an, dessen Wirkung er durch die Fähigkeit, Antitoxin in variablen Proportionen zu binden, je nach dem Grade der Besetzung mit Antitoxin variieren läßt. Arrhenius und Madsen endlich haben in neuerer Zeit versucht, Aufklärung auf dem a priori nächstliegenden Wege zu bringen, indem sie Toxin und Antitoxin als einheitliche Substanzen auffassen und unter Heranziehung des Massenwirkungsgesetzes die Absättigungskurve als den Ausdruck einer reversiblen Reaktion zwischen einheitlichen Substanzen betrachten.

So bestehend die Anschauung von Arrhenius und Madsen¹⁾ durch ihre große Einfachheit auf den ersten Blick ist, mußte doch gerade diese Einfachheit den erfahrenen Biologen stutzig machen. Für Stoffe, die wie Toxin und Antitoxin noch immer zu den rätselhaftesten Gebilden, mit denen die Natur arbeitet, gehören, die dem analytischen Versuch des Chemikers unbezwinglich trotzen, sollten nun auf einmal dieselben einfachen Gesetze gelten wie für Ammoniak und Borsäure, wohldefinierte und rein darstellbare Körper der Chemie! Es konnte nicht wunder nehmen, daß diese Anschauung nicht unwidersprochen blieb und sich bald die Einwände häuften, die auf experimenteller Basis die rechnerischen Zahlenergebnisse widerlegten und dem so rasch aufgeführten Gebäude das Fundament entzogen [cf. Ehrlich²⁾, v. Dungern³⁾,

1) Arrhenius, S. u. Madsen, Th., Anwendung der physikalischen Chemie auf das Studium der Toxine und Antitoxine. (Zeitschr. f. physikal. Chemie. Bd. XLIV. 1903. No. 1.)

2) Ehrlich, P., Ueber die Giftkomponenten des Diphtherietoxins. (Berl. klin. Wochenschr. 1903. No. 35—37 und Vorläufige Bemerkungen zur Mitteilung von Arrhenius. (Ibid. 1904. No. 9.)

3) v. Dungern, E., Beitrag zur Kenntnis der Bindungsverhältnisse bei der Vereinigung von Diphtheriegift und Antiserum. (Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 8/9.)

Sachs¹⁾ und Morgenroth²⁾]. Zudem ist von Nernst³⁾ darauf hingewiesen worden, daß es bei der labilen Natur der Substanzen von vornherein wenig wahrscheinlich ist, daß Toxin und Antitoxin reversibel reagieren, zumal es zum mindesten zweifelhaft ist, ob Toxine und Antitoxine zu den Kristalloiden gehören, und zwischen Kolloiden reversible Reaktionen in homogener Lösung niemals festgestellt wurden. Schließlich könnte man sich schon mit dem von Nernst erbrachten Nachweis begnügen, daß von Arrhenius und Madsen das Gesetz der Massenwirkung in einer rechnerisch unzulässigen Weise verwandt worden ist, um die Diskussion über diesen Gegenstand für erledigt zu halten. Es ist auch nicht unsere Absicht, hier alle Gesichtspunkte, die ins Feld geführt worden sind, nochmals zu erörtern, nur auf eine Frage glauben wir bei der Wichtigkeit der Sache mit einigen neuen experimentellen Belegen zurückkommen zu dürfen. Sie betrifft die von Arrhenius und Madsen als Grundlage supponierte vollkommene Reversibilität der Toxin-Antitoxinverbindung.

Wie v. Dungern zuerst gezeigt hat, ist diese Frage der experimentellen Analyse zugänglich. Reversible Reaktionen erreichen nämlich bei gleichen Mengen der reagierenden Substanzen stets denselben Gleichgewichtszustand, d. h. es sind nach Ablauf der Reaktion immer die gleichen Mengen der freien Substanzen und des Reaktionsproduktes in dem Gemisch vorhanden. Wird die eine von zwei reagierenden Substanzen in zwei zeitlich getrennten Fraktionen zugefügt, so werden vorübergehend geringere Mengen der freien Substanzen vorhanden sein, als wenn das Gesamtgemisch zur Zeit des Zusatzes der zweiten Fraktion angesetzt wird, wie ich früher ausführlich erörtert habe.

Ein Abweichen von diesem Verhalten spricht ohne weiteres dafür, daß die in Frage stehende Reaktion nicht als reversibel zwischen einheitlichen Substanzen aufgefaßt werden darf. Die ersten Anhaltspunkte in dieser Richtung bietet bei den Reaktionen zwischen Toxin und Antitoxin eine Beobachtung von Danysz⁴⁾, deren Bedeutung für die hier interessierende Frage v. Dungern erkannt hat. Danysz fand, daß Gemische von Ricin und Antiricin erheblich giftiger sind, wenn das Ricin dem Antiricin fraktioniert zugefügt wird. Dieses Verhalten steht im direkten Gegensatz zu dem Reaktionsverlauf, den das Massenwirkungsgesetz für reversible Reaktionen zwischen einheitlichen Verbindungen fordert. Es ist durch den Begriff der Reaktionsgeschwindigkeit nicht zu erklären; denn die Reaktionsgeschwindigkeit müßte gerade die umgekehrten Bedingungen schaffen. Bei dieser Sachlage muß bei der Einfachheit des Versuches zum mindesten die absolute Forderung gestellt werden, bei allen Giften, die zum Gegenstand einer rechnerischen Analyse auf Grund einer aus dem Massenwirkungsgesetz abgeleiteten Gleichgewichtsformel gemacht werden, vorher experimentell

1) Sachs, H., Ueber die Konstitution des Tetanolytins. (Berl. klin. Wochenschr. 1904. No. 16.)

2) Morgenroth, J., Untersuchungen über die Bindung von Diphtherietoxin und Antitoxin, sowie über die Konstitution des Diphtheriegiftes. (Berl. klin. Wochenschr. 1904. No. 20.)

3) Nernst, W., Ueber die Anwendbarkeit der Gesetze des chemischen Gleichgewichts auf Gemische von Toxin und Antitoxin. (Zeitschr. f. Elektrochemie. Bd. X. 1904. No. 22.)

4) Danysz, Contribution à l'étude des propriétés et de la nature des mélanges des toxines avec leurs antitoxines. (Ann. de l'Institut Pasteur. 1902.)

nachzuweisen, daß die Anwendung der Formel erlaubt ist, d. h. daß das Phänomen der Toxizitätserhöhung durch fraktionierten Toxinzusatz fehlt. Dieser Nachweis ist bisher erst ein einziges Mal gelungen, indem ich¹⁾ beim Cobragift gezeigt habe, daß es gleichgültig ist, ob das Cobragift zu einer bestimmten Menge von Antivenin auf einmal oder in Absätzen zugefügt wird, wenn die Toxizitätsbestimmung der Gemische mit einem reichlichen Lecithinzusatz geschieht.

So wurden 0,07 ccm Antivenin mit 0,02 ccm 1-proz. Cobragift gemischt, nach 20 Stunden weitere 0,04 ccm 1-proz. Cobragift hinzugefügt (A) und gleichzeitig ein Gemisch B angesetzt, in dem 0,07 ccm Antivenin + 0,06 ccm 1-proz. Cobragift auf einmal zusammengebracht wurden. Die Bestimmung der hämolytischen Wirksamkeit der beiden auf gleiches Volumen aufgefüllten Gemische ergab genau denselben Wert. 0,075 ccm von A und B waren gerade die komplett-hämolytische Dosis für Ochsenblut bei Zusatz von 0,1 ccm 0,1-proz. Lecithinlösung.

Das rechnerische Studium der Vereinigung von Cobragift und Antitoxin ist unter diesen Bedingungen in der Tat äußerst einfach. Hat doch Kyes²⁾ nachgewiesen, daß sich Cobragift und Antivenin wie eine starke Base und eine starke Säure neutralisieren, die Absättigungskurve eine gerade Linie darstellt. Wenn Zahlen und Experiment dermaßen vollständig übereinstimmen, wird der Annahme eines einheitlichen Körpers nichts im Wege stehen, der freilich in diesem Falle eben eine starke Avidität zum Antitoxin besitzen muß. In allen anderen bisher daraufhin untersuchten Fällen hat aber der Prüfstein des Fraktionierungsversuches gezeigt, daß die Produkte und Erscheinungen der lebendigen Natur in der Regel komplizierter sind, als daß sie sich in einen von Menschengestalt gewollten mathematischen Ausdruck zwingen ließen.

So hat v. Dungern (l. c.) für das Diphtheriegift, habe ich (l. c.) für das Tetanolytin gezeigt, daß Toxin-Antitoxingemische durch Toxinfraktionierung erheblich giftiger werden, und wir haben dabei eingehend erörtert, daß solche Befunde nur durch die Annahme verschieden avider bindender Gruppen in der Giftlösung und einer Verfestigung nach erfolgter Bindung zu verstehen sind. Dadurch ist die unitarische Anschauung von Arrhenius und Madsen für das Tetanolytin und Diphtheriegift bereits widerlegt.

Das Gleiche gilt durch die schon erwähnten Versuche von Danysz für das Ricin, das Madsen und Walbum³⁾ in einer neueren Arbeit in derselben Weise rechnerisch behandelt haben. Daß dabei berechnete und beobachtete Zahlen teilweise übereinstimmen, ist diesem alle Zahlen und Rechnungen vernichtenden Fundamentalversuch gegenüber völlig belanglos. Zudem verschweigen die Autoren nicht, daß gewisse Teile der für Ricin angegebenen Zahlenreihen, besonders bei geringem Antitoxinzusatz in Beobachtung und Berechnung weitgehend differieren. Ja es ist ihnen nicht entgangen, daß Ricinlösungen bei geringem Antitoxinzusatz sogar giftiger werden können, Beobachtungen, die für Krotin durch Jacoby⁴⁾, für Abrin durch Hausmann⁵⁾ schon vorliegen und

1) Sachs, H., l. c.

2) Kyes, P., Cobragift und Antitoxin. (Berl. klin. Wochenschr. 1904. No. 19.)

3) Madsen, Th. et Walbum, L., Toxines et antitoxines. De la ricine et de l'antiricine. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. No. 2.)

4) Jacoby, M., Ueber Krotin-Immunität. (Hofmeisters Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. IV. 1903. No. 5/6.)

5) Hausmann, W., Zur Kenntnis des Abrins. (Hofmeisters Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. II. 1902.)

im Sinne von Prototoxoiden dem gegenwärtige Stande unseres Wissens entsprechend einwandsfrei gedeutet worden sind. Und wenn man die Tabellen der Autoren vorurteilsfrei durchsieht, so findet man, daß in fast allen ihren Beobachtungen Prototoxoidzonen mehr oder minder breit, aber immer deutlich ausgeprägt vorkommen, und die so regelmäßig aussehenden Kurven, die auf ihrem Wege die nicht in das Schema passenden Beobachtungspunkte zu berühren verschmähen, erscheinen als ein willkürliches Spiel graphischer Darstellung. Wenn aber die Autoren auf die Prototoxoidzone deshalb kein Gewicht legen wollen, weil sie sie in zwei Versuchen, die mit dem gleichen Material in der nämlichen Weise angestellt waren, nur einige Stunden hintereinander, einmal fanden, das andere Mal nicht, so müssen wir demgegenüber hervorheben, daß gerade dieser von ihnen angeführte Versuch ebenso gut als besonders beweiskräftig für Prototoxide gelten kann. Vergleicht man nämlich die Zahlen der beiden Versuchsreihen, so findet man, daß in der Zwischenzeit auch die absolute Agglutinationskraft der Ricinlösung entsprechend herabgesetzt worden ist. Die Toxizität hat also abgenommen, gleichzeitig ist das Phänomen der Prototoxoidzone eingetreten, und so verdient diese Beobachtung gerade als markanter Beweis für die Prototoxoidbildung angeführt zu werden¹⁾.

Ueberhaupt ist nach den Untersuchungen Jacobys²⁾, die Toxoidurchsetzung des Ricins eine so komplizierte, daß man beim Studium dieses Giftes auf noch größere Schwierigkeiten stößt, als beim Diphtheriegift. Durch Jacoby wissen wir, daß das Ricin ein Gemenge von Agglutinin, Toxin und unwirksamen Toxoiden darstellt, die alle die gleiche mit dem Antiricin reagierende haptophore Gruppe besitzen. Dabei können die einheitlichen haptophoren Gruppen möglicherweise verschiedene Avidität besitzen, und Jacoby hält es besonders für sehr möglich, daß die Avidität des Agglutinins eine etwas größere, als die des Toxins ist. Die dem experimentellen Material am besten entsprechende Auffassung ist nach Jacoby, daß die reinen Ricinkomplexe eine haptophore, eine agglutinophore und eine toxophore Gruppe besitzen, also zugleich Träger der agglutinierenden und toxischen Wirkung sind. Durch Zerstörung der toxophoren, resp. agglutinophoren Gruppe entstehen Agglutinin-, resp. Toxintoxoide, durch Zerstörung beider Gruppen atoxische Toxoide. Bei dieser Sachlage muß es als unzulässig zurückgewiesen werden, wenn Madsen und Walbum die beiden Wirkungen des Ricins vollständig trennen, deren gemeinsame Reaktionsfähigkeit mit dem Antitoxin vernachlässigen, und ganz befremdlich muß es erscheinen, wenn sie noch dazu für Agglutinin und Toxin zu differenten Gleichgewichtsformeln gelangen.

Wie schwerwiegend die Summe aller dieser Einwände auch ist, schon die Erwähnung der Ricinversuche von Danysz hätte genügt, um die physikalisch-chemische Auffassung im Sinne von Arrhenius und Madsen auch beim Ricin zu widerlegen. Ich habe daher noch bei einigen anderen Substanzen, für die Madsen und Walbum von

1) Die neuerliche Leugnung der Diphtherieprototoxide durch Arrhenius und Madsen, die im Gegensatz zu ihren früheren Angaben steht, findet also in den Ricinversuchen nicht den mindesten Anhaltspunkt. Zudem dürfte die Erhöhung der Giftigkeit durch kleine Antitoxinmengen ohne die Annahme von Prototoxoiden kaum verständlich sein.

2) Jacoby, M., Ueber Ricinimmunität. (Hofmeisters Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. I u. II. 1901/2.)

analogen Resultaten berichten, geprüft, ob die Fraktionierung des Toxins zu einer Toxizitätserhöhung führt oder nicht.

Meine Versuche betreffen zunächst das Staphylolysin, das besonders von M. Neisser und Wechsberg¹⁾ eingehend studiert worden ist. Als Blutart verwendete ich Kaninchenblut, als Antistaphylolysin das Serum immunisierter Pferde und Ziegen sowie normales Pferdeserum.

Zu einer willkürlich gewählten Antitoxineinheit wurden wechselnde Mengen Staphylolysin gefügt, um den L_0 - und den L_+ -Wert zu bestimmen, d. h. diejenigen Mengen, die mit der stets gleich bleibenden Serummenge gemischt, eben noch gar keine Wirkung auf 1 ccm 5-proz. Blutaufschwemmung ausübten, resp. gerade komplette Hämolyse herbeiführten. Ich teile je einen Versuch mit Pferdeimmunserum, Ziegenimmunserum und normalem Pferdeserum mit.

Staphylolysin und Pferdeimmunserum: Die willkürlich gewählte Serummenge war stets: 0,00625 ccm Serum. Die komplett lösende Dosis des benutzten Staphylolysins war: 0,01 ccm. Die Kontrollen, die stets zur Zeit des Zusatzes der zweiten Giftfraktion im eigentlichen Versuch angesetzt wurden, ergaben:

$$L_0 = 0,65 \text{ ccm}$$

$$L_+ = 0,8 \text{ „}$$

Der eigentliche Versuch bestand aus 4 Reihen von Reagenzgläsern, von denen jedes 0,00625 ccm Serum enthielt und außerdem in jeder Reihe dieselbe Staphylolysinmenge, und zwar in:

Reihe I: 0,3 ccm

„ II: 0,45 „

„ III: 0,55 „

„ IV: 0,6 „

Nachdem diese Röhrchen 20 Stunden bei Zimmertemperatur gestanden hatten, wurden in jeder Reihe wechselnde Giftmengen zugefügt, um den L_0 - und L_+ -Wert zu bestimmen. Die Gemische wurden mit Kochsalzlösung auf gleiches Niveau gefüllt, blieben noch, ebenso wie die gleichzeitig angesetzten Kontrollen, $\frac{1}{2}$ Stunde bei Zimmertemperatur, dann wurde 1 ccm 5-proz. Kaninchenblut eingefüllt. 2-stündiger Aufenthalt im Brutschrank, über Nacht (ca. 18 Stunden) im Eisschrank. Das Resultat zeigt die folgende Tabelle 1 an:

Tabelle 1.

	Als I. Giftfraktion wurden angesetzt	L_0	L_+
Bei sofortigem Zusatz der Gesamtgiftmengen	0	0,65	0,8
Bei fraktioniertem Zusatz der Giftmengen	0,3	0,55	0,65
	0,45	< 0,55	0,65
	0,55	< 0,65	0,7
	0,6	—	0,7

Wie die Tabelle zeigt, tritt also bei der Giftfraktionierung eine deutliche Reduktion von L_0 und L_+ ein.

Um zu bestimmen, wie lange die erste Giftfraktion mit dem Anti-

1) Neisser, M. u. Wechsberg, F., Ueber das Staphylotoxin. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXXVI. 1901.)

toxin in Berührung gewesen sein muß, damit nach Zusatz der zweiten Fraktion das Reduktionsphänomen eintritt, wurden in 5 Reihen dieselben Giftmengen (0,45 ccm) mit der Serummenge gemischt, der weitere Staphylolysinzusatz erfolgte aber nach verschiedenen Zeiten, wie in Tabelle 2 angegeben ist:

Tabelle 2.

I. Giftfraktion	Zeit des zweiten Giftzusatzes	L ₀	L ₊
	gleichzeitig	0,65	0,8
0,45	1/2 h	0,6	0,65
0,45	1 h	0,6	0,65
0,45	2 h	0,55	0,65
0,45	4 h	0,55	0,65
0,45	20 h	0,55	0,65

Die Zeit spielt also, wie aus der Tabelle ersichtlich, keine große Rolle, indem schon nach 1/2-stündigem Digerieren die Resultate annähernd dieselben sind wie nach 20-stündigem. Dabei kann natürlich nicht bestritten werden, daß eine gewisse Zeit zur Bindung der weniger aviden Bestandteile notwendig ist, aber diese Zeit braucht eben nicht größer zu sein als die Reaktionszeit des Staphylolysin überhaupt, da man Staphylolysin und Antilysin zur vollständigen Bindung zweckmäßig 1/2 Stunde vor der Bluteinfüllung stehen läßt¹⁾.

In den Versuchen mit Staphylolysin und Ziegenimmuns serum wurde das analoge Resultat erzielt. Die komplet lösende Dosis des hierbei benutzten Giftes betrug 0,05 ccm. Als Serummenge dienten 0,02 ccm. Das Ergebnis des ebenso, wie oben erörtert, angeordneten Versuches zeigt Tabelle 3.

Also auch hier prinzipiell dieselbe Erscheinung, und das gleiche kann man beobachten, wenn man sich des normalerweise im Pferdeserum vorkommenden schon von Kraus²⁾ entdeckten Antistaphylolysin als Antikörper bedient.

Normales Pferdeserum schützt bekanntlich auch gegen die hämolytische

1) Anmerkung bei der Korrektur: Während der Drucklegung dieser Arbeit erschien der in Bonn gehaltene Vortrag von Arrhenius: „Die Serumtherapie vom physikalisch-chemischen Gesichtspunkte“ (Z. f. Elektrochemie. Jahrg. X. 1904. No. 35). Arrhenius vertritt darin den Standpunkt, daß es sich in meinen früheren analogen Tetanolytinversuchen (l. c.) wohl um eine sehr langsam verlaufende Nebenreaktion handeln müsse, die bei schnellem Arbeiten die Hauptreaktion nicht störe. Daß dem nicht so ist, hat v. Dungern in einem eben in der Zeitschr. für Elektrochemie No. 40 erschienenen Aufsatz eingehend erörtert. Er hat darauf hingewiesen, daß durch seine Untersuchungen über das Diphtheriegift bereits erwiesen ist, daß die vermeintliche „Nebenreaktion“ schon nach 2 Stunden sehr stark ausgesprochen ist, während die Entgiftungsreaktion bis zu ihrer Vollendung 24 Stunden verlangt. Auch für das Staphylolysin haben die oben mitgeteilten Versuche ergeben, daß die Zeit für das hier behandelte Phänomen keine prinzipielle Rolle spielt, und beim Tetanolytin bin ich durch eine neuerliche Untersuchung zu demselben Resultat gelangt. Erfolgte nämlich im Fraktionierungsversuch der Zusatz der zweiten Giftfraktion schon 2 Stunden nach Zusatz der ersten (0,15 ccm), und wurde die hämolytische Wirksamkeit der Gemische nach abermaligem 2-stündigen Stehen bestimmt, so war der L₊-Wert gegenüber der zugehörigen Kontrolle noch immer von 0,45 ccm auf 0,35 ccm herabgesetzt. Damit dürfte auch für das Tetanolytin die von Arrhenius gegebene Deutung haltlos geworden sein.

2) Kraus, R. u. Clairmont, P., Ueber Hämolsine und Antihämolsine. Wiener klin. Wochenschr. 1900.)

Tabelle 3.

	Als I. Giftfraktion wurden zugesetzt	L ₀	L ₊
Bei sofortigem Zusatz der Gesamtgiftmengen	0	0,55	1,5
Bei fraktioniertem Zusatz der Giftmengen	0,2	0,3	1,2
	0,3	0,4	1,1
	0,4	< 0,5	1,1
	0,5	—	1,1

Wirkung des Tetanolsins. M. Neisser¹⁾ aber hat schon durch das quantitative Studium der beiden schützenden Funktionen des Pferdeserums gezeigt, das zwei voneinander unabhängige Antikörper vorliegen. Durch direkte chemische Trennung derselben bin ich in der Lage, diesen Befund zu bestätigen und zu erweitern. Fällt man nämlich Pferdeserum durch Alkohol, so geht das Antitetanolsin in den Alkoholextrakt, das Antistaphylolysin in den Niederschlag. Daß das Antitetanolsin des Pferdeserums alkohollöslich und daher wahrscheinlich Cholestearin ist, dessen Tetanolsin hemmende Eigenschaft wir schon durch Noguchi²⁾ kennen, hat bereits P. Th. Müller³⁾ gefunden. Durch diese Feststellung Müllers war zugleich die Anschauung von Arrhenius und Madsen unhaltbar geworden, nach welcher, wiederum auf Grund allzu trügerischer Zahlen, die Tetanolsin hemmende Fähigkeit des normalen Pferdeserums auf einer Verbindung des Giftes mit den Serumproteiden zu einer weniger giftigen Modifikation beruhen sollte.

Daß sich das Antistaphylolysin gerade umgekehrt verhält, d. h. in den Eiweißniederschlag geht, zeigt folgender Versuch.

20 ccm $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erhitztes Pferdeserum werden mit 180 ccm Alkohol absolutus $1\frac{1}{2}$ Stunden geschüttelt. Dann wird filtriert, der Alkoholextrakt im Vakuum destilliert und der Rückstand in 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Der Alkoholniederschlag wird zwischen Filtrierpapier abgepreßt und gleichfalls in 20 ccm Kochsalzlösung gelöst. Zur Kontrolle dient natives, $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erhitztes Pferdeserum. Verschiedene Mengen von gelöstem Alkoholextrakt, gelöstem Sediment und Serum werden mit je 2 komplet lösenden Dosen Staphylolysin $\frac{1}{2}$ Stunde digeriert, dann erfolgt Zusatz von Kaninchenblut. Das Resultat zeigt Tabelle 4.

Das Antistaphylolysin des normalen Pferdeserums geht also im Gegensatz zum Antitetanolsin quantitativ in den Eiweißniederschlag, und es gehört offenbar zu den echten Antikörpern. Dementsprechend ist auch der Versuch mit fraktioniertem Staphylolysinzusatz beim normalen Pferdeserum ebenso ausgefallen wie beim Immunserum. Das hierbei benutzte Gift ist dasselbe, wie in dem Versuche mit Ziegenimmunserum, die komplett lösende Dosis betrug also 0,05 ccm. Als Antitoxinmenge

1) Neisser, M., Ueber die Vielheit der im normalen Serum vorkommenden Antikörper. (Dtsche med. Wochenschr. 1900.)

2) Noguchi, H., The antihämolytic action of blood sera, milk and Cholesterin upon Agaricin, Saponin and Tetanolsin etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. 1902.)

3) Müller, P. Th., Geht das Tetanolsin mit den Proteiden des Serums und des Eiklars eine ungiftige Verbindung ein? (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903.)

Tabelle 4.

Mengen von A, B, C ccm	A Alkoholextrakt	B Niederschlag	C Natives Serum
0,5	komplette Hämolyse	keine Hämolyse	keine Hämolyse
0,25			
0,1			
0,05			
0,025			
0,01			
0,005			
0,0025			
0,0015			
0,001			

dienten 0,02 ccm Pferdeserum. Das Ergebnis ist aus Tabelle 5 ersichtlich.

Tabelle 5.

	Als I. Giftfraktion wurden zugesetzt	L ₀	L ₊
Bei sofortigem Zusatz der Gesamtgiftmengen	0	0,5	0,9
Bei fraktioniertem Zusatz der Giftmengen	0,2	< 0,3	0,65
	0,3	< 0,4	0,75
	0,4	< 0,5	0,8
	0,5	—	0,9

Als übereinstimmendes Resultat der hier mitgeteilten Versuche ergibt sich also auch für das Staphylolysin der zwingende Schluß, daß die Reaktion zwischen Toxin und Antitoxin nicht als reversible zwischen einheitlichen Substanzen aufgefaßt werden darf.

Ueber ganz analoge Resultate kann ich für das Arachnolysin, das schon früher von mir¹⁾ untersuchte Hämolysin der Kreuzspinne, berichten. Als Antiarachnolysin diente das Serum immunisierter Kaninchen. Die komplett lösende Dosis (Kaninchenblut) des benutzten Arachnolysins betrug 0,00015 ccm. Es wurde die hämolytische Wirksamkeit zweier Gemische festgestellt, die folgendermaßen hergestellt waren.

A. 0,444 Serum + 0,03 Arachnolysin werden mit Kochsalzlösung auf 4,3 ccm aufgefüllt, nach 20 Stunden weiterer Zusatz von 0,07 Arachnolysin + 0,63 ccm Kochsalzlösung.

B. Zur Zeit des zweiten Giftzusatzes in A werden 0,1 Arachnolysin mit 0,444 Serum gemischt und mit Kochsalzlösung auf 5,0 ccm aufgefüllt.

5 1/2 Stunden später wurde für beide Gemische die hämolytische Wirksamkeit festgestellt und es ergab sich für:

A. 0,05 ccm: Komplette Hämolyse.

B. 1,0 ccm: Mäßige Hämolyse.

In A waren also 100 lösende Dosen frei, in B höchstens 5. A war also mindestens 20mal so wirksam als B.

1) Sachs, H., Zur Kenntnis des Kreuzspinnengiftes. (Hofmeisters Beitr. zur chem. Physiol. u. Pathol. Bd. II. 1902.)

Dadurch ist also auch für das Arachnolysin das gleiche Verhalten erwiesen, das es von einer physikalisch-chemischen Betrachtungsweise im Sinne von Arrhenius und Madsen von vornherein ausschließt.

Endlich habe ich noch die Reaktion zwischen Lab und Antilab auf dieselbe Weise untersucht. Dabei diente als Antilab dialysiertes Pferdeserum, dessen labhemmende Wirkung nach den Untersuchungen von Korschun¹⁾ durch einen echten Antikörper bedingt ist. Ich verfolgte die von Morgenroth²⁾ und Korschun gewiesene Methodik.

0,15 ccm dialysiertes Pferdeserum waren die willkürlich gewählte Antilabeinheit. Die Gemische mit der I. Labfraktion wurden 20 Stunden in Eisschrank belassen, dann erfolgte weiterer Labzusatz, $\frac{1}{4}$ -ständiger Aufenthalt bei Zimmertemperatur, Zufügen von 10 ccm Kuhmilch und weiterer 20-stündiger Aufenthalt im Eisschrank. Sodann kamen die Röhrchen in ein Wasserbad von 37°. Die Kontrollen mit sofortigem Zusatz der Gesamtlabmengen wurden zur Zeit des zweiten Labzusatzes angesetzt und erfuhren dieselbe Weiterbehandlung. Die labende Dosis des verwendeten Labpräparates (Witte) war 0,0009 ccm einer 1-proz. Lösung. Das Versuchsergebnis ist in Tabelle 6 notiert.

Tabelle 6.

	Als I. Labfraktion wurden zugesetzt (0,1 Proz. Lab)	L ₀ (0,1 Proz. Lab)	L ₊ (0,1 Proz. Lab)
Bei sofortigem Zusatz der Gesamtlabmengen	0	0,6	0,625
bei fraktioniertem Zusatz der Labmengen	0,2	0,4	0,5
	0,4	0,525	0,55

Wie die Tabelle zeigt, liegt also auch bei der Reaktion zwischen Lab und Antilab dieselbe Gesetzmäßigkeit der erhöhten Wirkung durch Fraktionierung des Ferments vor³⁾.

Daß dieses Verhalten, das unbedingt für eine Vielheit der bindenden Gruppen spricht, so weit verbreitet unter den Produkten der lebenden Natur ist, kann nicht wunder nehmen. Bedenkt man, einer wie großen Mannigfaltigkeit man überall begegnet, wo es sich um die Lebenstätigkeit

1) Korschun, S., Ueber Lab und Antilab. (Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. XXXVI. 1902.)

2) Morgenroth, J., Ueber den Antikörper des Labenzym. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXVI. 1899.)

3) Allerdings hat Morgenroth (l. c.) gefunden, daß bei der Neutralisation des Labs mit einem immunisatorisch erzeugten Antikörper der Absättigungsvorgang geradlinig verläuft und daraus geschlossen, daß im frischen Lab nur das einheitliche Ferment vorhanden ist. Spätere ausgedehnte Untersuchungen von Korschun mit Lab und normalem Pferdeserum zeigten andererseits einen unregelmäßigen Absättigungsverlauf. Wir müssen es dahingestellt sein lassen, ob die verschiedenen Versuchsergebnisse durch die Verschiedenheit der Labpräparate oder aber etwa durch den Umstand bedingt sind, daß in dem einen Fall normales, in dem anderen immunisatorisch erzeugtes Antilab benutzt wurde, welch letzteres eine erhöhte Avidität haben kann, wie ja ein solcher Aviditätsunterschied eines normalen und immunisatorisch erzeugten Antitoxins auch von Kraus (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. 1903) für ein Bakterientoxin festgestellt worden ist. Wir wollen nur darauf hinweisen, daß sich auch Madsen und Walbum nach einer Angabe von Arrhenius (La chimie physique dans ses rapports avec la sérothérapie. [Bull. de l'Inst. Pasteur. T. II. 1904. p. 561]) des normalen Pferdeserums als Antilab bedienten.

pflanzlicher oder tierischer Organismen handelt, so erscheint eine komplizierte Zusammensetzung der Toxine und Fermente zu selbstverständlich, als daß sie einer besonderen Erörterung bedürfte¹⁾. Die Reaktionen zwischen Toxin und Antitoxin lassen sich eben im allgemeinen nicht, so bequem es auch wäre, der Gruppe der reversiblen Reaktionen einordnen. Ob eine gewisse Reversibilität bei der Reaktion der einzelnen Giftkomponenten mit dem Antitoxin besteht oder nicht, ist noch nicht sicher zu entscheiden. Jedenfalls beherrscht sie keineswegs das Bild der Gesamtreaktion, so daß sie für eine rechnerische Formulierung des Gleichgewichtes nicht als Grundlage dienen kann. Einmal spielt eben die verschiedene Avidität der Komponenten eine ausschlaggebende Rolle, so daß die Analyse der Giftlösung etwa der Aufgabe entsprechen würde, ein Gemisch von Natronlauge und Ammoniak, wenn beide chemisch völlig unbekannte Körper wären, physikalisch-chemisch zu bestimmen. Dann aber ist die Reversibilität, selbst wenn sie bei den Reaktionen der einzelnen Komponenten besteht, eine begrenzte. Zum mindesten verläuft die Reaktion in umgekehrter Richtung erheblich langsamer, so daß der Begriff der „Verfestigung“ der Toxin-Antitoxinverbindung zum Verständnis dieses komplizierten Gebietes unerläßlich ist.

Daß die Reaktion nicht reversibel ist, geht ja übrigens schon aus alten Erfahrungen hervor. Bei einer Reversibilität müßte sich aus neutralen Toxin-Antitoxingemischen Toxin wieder gewinnen lassen, wenn man nur im stande ist, den frei gebliebenen Toxinteil zu entfernen und so das Gleichgewicht stetig zu verändern. Dadurch, daß das Toxin eine erheblich größere Diffusionsgeschwindigkeit besitzt als das Antitoxin, ist dieses Experimentum crucis leicht auszuführen. Nun wissen wir aber bereits durch Martin und Cherry²⁾, daß aus Toxin-Antitoxingemischen kein Toxin durch Gelatinefiltration zu erhalten ist, obwohl Toxin an sich im Gegensatz zum Antitoxin das Gelatinefilter passiert. Wenn Madsen und Walbum aus einem von ihnen mitgeteilten Versuch den entgegengesetzten Schluß ziehen zu müssen glauben, so haben sie übersehen, daß das Toxin-Antitoxingemisch natürlich vorher vollständig gebunden sein muß, wenn der nachfolgende Diffusionsversuch überhaupt einen Rückschluß auf die etwaige Dissociationsfähigkeit der Verbindung erlauben kann. Wenn sie daher finden, daß aus einem frischen Gemisch von Diphtherietoxin und Antitoxin Toxin in Gelatine diffundiert, so ist das in jedem Falle ein selbstverständlicher Befund, zumal wir durch Morgenroth jetzt wissen, daß die Bindung zwischen Diphtherietoxin und Antitoxin keineswegs eine schnelle ist, sondern einer Reaktionszeit von 24 Stunden bedarf. Ausschlaggebend für die Beurteilung der Frage ist nur die gleichzeitige Angabe von Madsen und Walbum, daß es eine „condition nécessaire“ für die Dissociation ist, daß das Gemisch frisch ist und nicht schon einige Zeit gestanden hat. Ein besserer

1) Anmerkung bei der Korrektur: Die Notwendigkeit, neue Substanzen, wie Epitoxonoide anzunehmen, kann doch wohl nicht, wie Arrhenius und Madsen in einer eben erschienenen Arbeit (dieses Centralbl. Bd. XXXVII. Heft 1. p. 9) meinen, als „danger de la méthode suivie“ die Methode miskreditieren. Gefährvoll erscheint uns vielmehr eine allzu große Vernachlässigung neuer, auf Grund von vorgefaßten Formeln paradox erscheinender Versuchsergebnisse, und nicht die Deutung der gesammelten biologischen Erfahrungen unter Heranziehung notwendiger Hilfsannahmen. Der bei der Fraktionierungsmethode gemessene Ausschlag ist übrigens so gewaltig, daß die Größe der Fehlergrenze gar nicht in Betracht kommt.

2) Martin, C. J. and Cherry, Th., The nature of the antagonism between toxins and antitoxins. (Brit. med. Journ. 1898.)

Beweis zur Widerlegung der Dissociationsfähigkeit kann nicht gefordert werden. Die scheinbare Dissociation tritt eben nur so lange in Erscheinung, als die Reaktion unvollendet ist; nach vollständiger Bindung ist kein Freiwerden von Toxin mehr zu erzielen, und Madsen und Walbum haben nur eine weitere Bestätigung der früheren Erfahrungen über die Irreversibilität erbracht¹⁾.

Bei dieser Sachlage dürfte ein anderer Versuch von Madsen und Walbum vielleicht noch einer weiteren Aufklärung bedürfen. Es sollen nämlich Blutkörperchen im Stande sein, aus einem neutralen Ricin-Antiricinemisch Ricin an sich zu reißen. Wenn dieser Versuch im Sinne einer Dissociation der Verbindung durch die Blutkörperchenrezeptoren gedeutet wird, dann wird man freilich, worauf bereits Nernst²⁾ und Morgenroth³⁾ hingewiesen haben, den Autoren den schwerwiegenden Einwand nicht ersparen können, daß sie einen wichtigen Konstituenten des Gleichgewichts in ihren Rechnungen völlig vernachlässigt haben. Denn dann würde der zur Wirkung gelangende Ricinteil nicht allein durch das Gleichgewicht zwischen Ricin und Antiricin bestimmt sein, sondern die Blutkörperchenrezeptoren würden den Endeffekt in erheblichster Weise beeinflussen und müßten notwendig in die Rechnung mit hereinbezogen werden.

Nachdruck verboten.

Kuhpockenlymphe und Tuberkulose.

[Aus dem Institute zur Erforschung der Infektionskrankheiten. Bern.
(Direktor: Prof. Tavel.)]

Von Dr. A. Carini, Chef der Vaccineabteilung.

Während durch die Anwendung der animalen Lymph die Gefahr der Uebertragung der Syphilis absolut beseitigt worden ist, besteht eine solche hinsichtlich der Tuberkulose immer noch in vollem Maße; ja man könnte fast glauben, daß die letztere Gefahr sogar eine größere geworden ist, indem bei Rindern, von welchen hauptsächlich die animale Lymph gewonnen wird, die Tuberkulose zu den häufigsten Erkrankungen gerechnet werden muß.

Nachdem durch die klassischen Untersuchungen von Koch die infektiöse Natur der Tuberkulose festgestellt worden war, lag es natürlich nahe, experimentell zu untersuchen, ob in der von tuberkulösen Menschen oder Tieren gewonnenen Lymph Tuberkelbacillen enthalten seien, da ja nur unter dieser Bedingung eine Uebertragung von Tuberkulose möglich ist. Zum Zwecke eines solchen Nachweises haben Lothar Meyer (1 u. 2) sowie Acker (3) tuberkulöse Individuen geimpft und den Inhalt

1) Anmerkung während der Korrektur: In einer soeben erschienenen Arbeit (Berl. klin. Wochenschr. 1904. No. 39) vertritt v. Calcar den gleichen Standpunkt und berichtet zugleich über eigene Versuche, welche ergeben haben, daß genügend lange gelagerte Gemische von Diphtherietoxin und Antitoxin kein Toxin mehr in Gelatine diffundieren lassen. Durch ein sinnreiches Dialysierverfahren ist es v. Calcar ferner gelungen, aus dem nativen Diphtheriegift Toxin und Toxon getrennt zu erhalten, so daß an der Existenz der Toxone auch hiernach nicht mehr zu zweifeln ist.

2) Nernst, W., l. c.

3) Morgenroth, J., Untersuchungen über die Bindung von Diphtherietoxin und Antitoxin, zugleich ein Beitrag zur Kenntnis der Konstitution des Diphtheriegiftes. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLVIII. 1904. p. 181.)

der Pusteln mikroskopisch untersucht, ohne aber Tuberkelbacillen darin finden zu können. Die mikroskopische Untersuchung allein jedoch genügt nicht, um mit Sicherheit die Anwesenheit der Tuberkelbacillen ausschließen zu können, und deshalb haben später Jossierand (4), Strauss (5) und Peiper (6) den Tierversuch an Meerschweinchen und Kaninchen angefügt. Aber auch diese Untersuchungen hatten nur negative Ergebnisse.

Dagegen war es schon im Jahre 1881 Toussaint (7) gelungen, mit dem Inhalte von Lymphpusteln einer schwindstüchtigen Kuh bei 4 Kaninchen und bei einem Schweine Tuberkulose zu erzeugen.

Einen gleichen positiven Erfolg hat Bernheim (8) im Jahre 1894 erzielt, indem er mit der Lymph einer tuberkulösen Kuh eine andere anscheinend gesunde Kuh impfte. Das Tier wurde nach 75 Tagen getötet und zeigte ausgebreitete Tuberkulose. Mit dem Pustelinhalt des zweiten Tieres infizierte Bernheim 9 Kaninchen, von welchen 4 an Tuberkulose zu Grunde gingen. Gestützt auf diese eigenen Befunde und auf diejenigen Toussaints behauptet nun Bernheim, daß die Vaccination mit Lymph, die von schwindstüchtigen Tieren oder Menschen stammt, die direkte Ursache der verschiedenen Formen von Tuberkulose ist, die so häufig bei Kindern einige Tage oder Wochen nach der Vaccination auftreten.

Diese Schlußfolgerung Bernheims ist jedoch als vollkommen unzutreffend zu betrachten, da ja überall, wo die Schutzlymphe nach seiner Annahme als Vermittler der Tuberkulose gedient hat, in derselben notwendigerweise Tuberkelbacillen hätten enthalten sein müssen. In diesen Fällen wäre bei den betreffenden Individuen nach erfolgter kutaner Impfung zunächst eine lokale Tuberkulose aufgetreten mit einer daran sich anschließenden Mitbeteiligung der regionalen Drüsen und später auftretenden anderen tuberkulösen Lokalisationen.

Außerdem ist noch zu bemerken, daß die positiven Ergebnisse der Untersuchungen Toussaints aus einer Zeit datieren, wo unsere Kenntnisse über die Aetiologie der Tuberkulose noch geringe waren und wo bei dem fast absoluten Fehlen jeder Asepsis irreleitende Nebeninfektionen bei den betreffenden Versuchen nicht auszuschließen waren. Die eigenen Versuche Bernheims sind ebenfalls in verschiedener Hinsicht nicht als einwandfrei zu bezeichnen; jedenfalls ist es nicht angezeigt, auf Grund einzelner Experimente die Gefahr einer Uebertragung der Tuberkulose als eine sehr große hinzustellen.

Wie dem nun auch sei, die Möglichkeit einer Uebertragung der Tuberkulose durch die Lymph ist nicht auszuschließen. Man hat deshalb in fast allen gut geleiteten Impfinstituten die direkte Impfung von Tier auf Mensch verlassen und benutzt nur noch Lymph von Tieren, bei denen die Sektion völlige Gesundheit ergeben hat.

Einige Darsteller von Lymph haben nun, obzwar sie in der Praxis nie Lymph von Tieren benutzen, die auch nur in geringem Grade als schwindstüchtig befunden wurden, Versuche darüber angestellt, ob eine solche Lymph Tuberkelbacillen enthält. Solche Versuche sind von Abba (9) unternommen worden, der mit der Lymph einer schwindstüchtigen Kuh 12 Meerschweinchen injizierte und dabei nur negative Resultate erhielt. Ein gleiches negatives Ergebnis hatten die Untersuchungen von Veratti (10), dem es nicht gelang, mit der Lymph von 6 tuberkulösen Kühen trotz zahlreicher Inokulationen bei Meerschweinchen Tuberkulose zu erzeugen. Onorato (11) untersuchte die Lymph von 3 Kuhkälbern, aber weder auf mikroskopisch-kulturellem

Wege noch durch Tierexperimente konnte er die Anwesenheit von Tuberkelbacillen nachweisen.

Ähnliche Versuche sind auch wohl in anderen Instituten unternommen worden, aber wir haben keine Kenntnis davon, daß irgendwo dabei positive Ergebnisse erzielt wurden.

Da uns in unserem Impfinstitute ein reiches Material zu Gebote stand, so glaubten wir, daß es nicht ohne Interesse sein würde, auch unsererseits diesbezügliche Untersuchungen vorzunehmen.

Die Tiere, die man im hiesigen Institute zur Gewinnung von Lymphe verwendet, werden vorher von einem Tierarzt untersucht und mit Tuberkulin auf die Existenz eines tuberkulösen Herdes geprüft. Nach der Abimpfung kommt jedes Tier ins Schlachthaus zur Sektion, die gleichfalls vom Tierarzt ausgeführt wird.

Unter sämtlichen Tieren, die in den letzten Jahren zur Verwendung kamen, fanden sich 42 Exemplare mit tuberkulösen Läsionen. Letztere waren weder durch die klinische Untersuchung noch durch die Tuberkulinprobe als solche erkannt worden, ein Beweis, daß das Tuberkulin in manchen Fällen für die Diagnose der Tuberkulose versagt. Es ist dies ja eine von verschiedenen Autoren bestätigte Beobachtung, daß manche Tiere trotz tuberkulöser Affektionen, und zwar gleichviel, ob es sich dabei um eine generalisierte Tuberkulose oder um eingekapselte, verkalkte Herde von beschränkter Ausdehnung handelt, auf Tuberkulininjektionen nicht reagieren.

Wir haben die Lymphe von diesen 42 Tieren (Stieren und Kühen), welche bei der Sektion als tuberkulös befunden wurden, auf Tuberkelbacillen untersucht. Unter diesen Tieren war ein 3 Monate altes Kalb mit allgemeiner Tuberkulose; ich erwähne dies besonders, weil es der einzige Fall von Tuberkulose war, den ich unter einer großen Anzahl von Kälbern beobachten konnte (Tab. I. No. 32).

Die zuverlässigste und einfachste Methode, Tuberkelbacillen in abgenommener Lymphe nachzuweisen, ist die Verimpfung der letzteren auf Meerschweinchen. Die mikroskopische Untersuchung sowie Kulturversuche haben gar keine Aussicht auf Erfolg. Wir adoptierten deshalb erstere Methode. Die Impfung geschah meist subkutan an der Unterbauchgegend in der Nähe der Inguinaldrüsen. Die Resultate aller Impfungen waren negativ. Ein Teil der Versuchstiere ging an sekundären Infektionen zu Grunde zu einer Zeit, da sich noch kein Schluß auf das Eingetretensein einer Tuberkulose ziehen ließ; alle übrigen Tiere zeigten auch nach längerer Zeit, in der sich eine Tuberkulose unbedingt deutlich hätte entwickeln müssen, nicht die geringsten Veränderungen. Ich betone hier ausdrücklich, daß unter den Tieren, von denen die untersuchte Lymphe stammte, einige an einer ausgedehnten allgemeinen Tuberkulose litten (Tab. I. No. 6, 12, 16, 24, 27 etc.).

Da nun bekanntermaßen das Meerschweinchen eine außerordentliche Empfindlichkeit für Tuberkelbacillen besitzt, müssen wir aus unseren Versuchsergebnissen folgern, daß die Lymphe, die von Tieren mit innerer Organtuberkulose stammt, keine Tuberkelbacillen enthält.

Gleichzeitig werden wir durch diese Resultate dahin belehrt, daß die Vaccination mit einem solchen Impfstoff keine besonderen Gefahren für die Impflinge mit sich bringt. Indessen wird trotzdem in der Mehrzahl aller Institute eine solche Lymphe vernichtet.

Eine weitere Bestätigung unserer Versuchsergebnisse liegt übrigens in der Tatsache, daß Fälle von Hauttuberkulose im Anschlusse an

Tabelle I.

N.	Impfriere	Alter	Datum der Abimpfung	Sektionsbefund der Impfiere	Meerschweinchenimpfung		Ausgang
					Zahl	Datum	
1	Stier	1½	3. VII. 00	tuberkulös	a b	10. VII. 00 id.	bleibt gesund "
2	Kuh	5	3. VII. 00	tuberkulös	a b	10. VII. 00 id.	" "
3	"	5	4. X. 00	Tuberkulose der Lunge	a b	12. X. 00 id.	" "
4	"	6	9. XI. 00	haselnußgroßer Tuberkelknoten, verkäst und mit dünner, glatter Bindegewebskapsel umgeben im rechten großen Lungenlappen	a b	13. XI. 00 id.	+ 14. XII. 00 keine Tuberkulose + 29. XII. 00 "
5	"	7½	2. IV. 01	Lungentuberkulose	a b	6. V. 01 3. VI. 01	+ 7. V. 01 bleibt gesund
6	"	8	2. IV. 01	Lungentuberkulose hochgradig, Leber stecknadelkopfgroße Tuberkelknoten	a b	6. V. 01 3. VI. 01	+ 7. V. 01 bleibt gesund
7	"	4½	16. V. 01	sieben Bronchial- und Mediastinaldrüsen waren mit zahlreichen stecknadelkopfgroßen Tuberkelherden durchsetzt. Alle übrigen Organe gesund	a b	12. VI. 01 id.	" "
8	"	4½	29. V. 01	multiple tuberkulöse Herde in einer Bronchialdrüse	a b	12. VI. 01 id.	" "
9	"	9	29. V. 01	Tuberkulose der Lungen und Mediastinaldrüsen	a b	12. VI. 01 id.	" "
10	Stier	3	10. VI. 01	eine der Bronchialdrüsen eigroß, mit zahlreichen Tuberkelherden durchsetzt	a b	13. VI. 01 id.	+ 17. VII. 01 bleibt gesund
11	Kuh	6½	17. VII. 01	ein hirsekorngroßer Tuberkelknoten in einer Mesenteriallymphdrüse	a b	20. VII. 01 id.	" "
12	"	8	13. VIII. 01	Tuberkulose der Lungen, Leber, Mediastinal- und Portaldrüsen	a b	16. VIII. 01 id.	" "

Kuh	7	29. VIII. 01	Tuberkulose der Lungen und der Mediastinaldrüsen	a b	31. VIII. 01 id.	bleibt gesund "
13	3	11. IX. 01	ein hasefußgroßer verkäster Tuberkelknoten in einer Bronchialdrüse	a b	IX. 01 id.	" "
14	6	30. X. 01	Tuberkulose der Lungen (mehrere verkäste oder verkalkte Herde). Tuberkelherde in einer Bronchial- und Portaldrüse	a b c d	XI. 01 id. XI. 01 XI. 01	+ 10. XI. 01 + 14. XI. 01 + 25. XI. 01 bleibt gesund
15	8	31. X. 01	hochgradige Tuberkulose der Leber, der Mediastinal-, Bronchial-, Mesenterial-, Portaldrüsen. Herde eiterig, verkäst, verkalkt	a b	XI. 01 id.	+ 13. XI. 01 bleibt gesund
16	8	31. X. 01	zahlreiche verkäste und verkalkte Tuberkelherde in den Lungen, in den Bronchial-, Mesenterial- und Mediastinaldrüsen	a b	XI. 01 id.	+ 12. XI. 01 bleibt gesund
17	7	11. XI. 01	Tuberkulose der Lunge, der Bronchial-, Mesenterial- und Retropharyngealdrüsen. Herde verkäst und verkalkt	a b	XI. 01 id.	+ 28. XI. 01 bleibt gesund
18	7	12. XI. 01	Tuberkulose der Lunge und der Bronchialdrüsen, Tuberkelherde verkäst, breiartig	a b	XI. 01 id.	+ 27. XI. 01 + 17. II. 02, keine Tuberkulose
19	7	13. XI. 01	Tuberkelherde im linken Lungenlappen und in den Bronchialdrüsen. Inhalt eiterig und käsig weich	a b	XII. 01 id.	+ 6. II. 02, keine Tuberkulose + 22. II. 02, "
20	7	22. I. 02	zahlreiche hirsekorngroße verkalkte Tuberkelknoten in drei Bronchiallymphdrüsen	a b c	I. 02 id. id.	+ 20. II. 02, keine Tuberkulose + 27. II. 02, " bleibt gesund
21	7	29. I. 02	drei kleine verkalkte Tuberkelherde in einer Bronchialdrüse. Ein erbsengroßer Tuberkelherd im linken großen Lungenlappen	a b	II. 02 id.	+ 26. II. 02, keine Tuberkulose + 27. II. 02, "
22	4	3. II. 02	Tuberkulose der Leber und verschiedener Mesenterialdrüsen. Herde verkäst und verkalkt	a b c d e	III. 02 id. III. 02 id.	+ 18. III. 02 + 26. III. 02, keine Tuberkulose + 23. IV. 02, " + 24. IV. 02, " bleibt gesund

Tabelle I (Fortsetzung).

N ^o	Impftiere	Alter	Datum der Abimpfung	Sektionsbefund der Impftiere	Meerschweinchen-impfung		Ausgang
					Zahl	Datum	
24	Kuh	5	6. II. 02	hochgradige Tuberkulose der Lunge; Herde verkäst, verkalkt, eingekapselt; verkäste Tuberkelherde auf Brustfell und in der Mesenterialdrüse	a 12. b c 27. d e	II. 02 id. id. III. 02 id.	+ 17. II. 02 + 3. III. 02, keine Tuberkulose + 8. III. 02, " + 3. IV. 02 + 8. IV. 02, keine Tuberkulose
25	"	6	19. II. 02	mehrere verkäste und verkalkte Tuberkelherde in einer vergrößerten Bronchiallymphdrüse	a 13. b c 27.	III. 02 id. III. 02	+ 18. III. 02 + 7. V. 02, keine Tuberkulose + 8. V. 02, "
26	"	7	27. II. 02	in zwei Mesenterialdrüsen fanden sich zwei haselnußgroße verkalkte Tuberkelknoten vor	a b c d	IV. 02 id. id. id. IV. 02	+ 22. IV. 02, keine Tuberkulose + 23. IV. 02, " + 10. V. 02, " + 25. IV. 02
27	"	9	17. III. 02	hochgradige Tuberkulose der Lungen, Mediastinal- und Mesenterialdrüsen. Herde verkalkt, verkäst oder breig weich	a b c d	IV. 02 id. id. V. 02 id.	+ 26. V. 02, keine Tuberkulose bleibt gesund " " " "
28	Stier	1 1/2	29. IV. 02	verkäste Tuberkelherde in einer Bronchialdrüse	a b	V. 02 id.	bleibt gesund " "
29	Kuh	6	21. VIII. 02	Tuberkulose der Lungen. Trachealdrüsen und Darmdrüsen teilweise schwach tuberkulös	a 13. b	IX. 02 id.	+ 5. X. 02, keine Tuberkulose + 12. X. 02, "
30	"	7	6. XI. 02	zahlreiche verkäste Tuberkelknoten in den Lungen und in den Bronchialdrüsen	a 25. b	XI. 02 id.	bleibt gesund " "
31	"	5	1. XII. 02	mehrere verkäste Tuberkelknoten in den Lungen und in den Bronchialdrüsen	a 10. b	XII. 02 id.	+ 4. I. 03, keine Tuberkulose + 10. II. 03, "

32	Kalb	3	1.	XII. 02	Tuberkulose der Lunge, Bronchialdrüsen, Leber und Portaldrüsen	a b c d	10. 18.	XII. 02 id. XII. 02 id.	+ 12. XII. 02 + 13. XII. 02 bleibt gesund "
33	Kuh	8	8.	XII. 02	hochgradige Tuberkulose der Lungen, der Bronchial-, Mediastinal- und Mesenterialdrüsen. Eiteriger Inhalt	a b	17.	XII. 02 id.	+ 14. I. 03, keine Tuberkulose bleibt gesund
34	"	5	8.	XII. 02	zwei verkäste erbsengroße Tuberkelknoten in einer Mediastinaldrüse	a b	17.	XII. 02 id.	+ 4. I. 03, keine Tuberkulose bleibt gesund
35	"	7	27.	I. 03	zwei verkäste Tuberkelknoten in der Lunge	a b c d	21. 13. 8.	II. 03 III. 03 IV. 03	+ 26. II. 03 + 5. III. 03, keine Tuberkulose + 8. IV. 03, " + 16. IV. 03
36	"	7	26.	II. 03	zahlreiche verkäste Tuberkelherde in den Bronchial- und Portaldrüsen	a b	13.	III. 03 id.	bleibt gesund "
37	"	6	17.	III. 03	zahlreiche eiterige Tuberkelherde in den Bronchialdrüsen	a b	25.	III. 03 id.	+ 12. IV. 03, keine Tuberkulose bleibt gesund
38	Stier	1 1/4	29.	IV. 03	mehrere Bronchialdrüsen hühnereigroß mit verkästen Tuberkelknoten	a b	13.	V. 03 id.	bleibt gesund "
39	Kuh	9	3.	IX. 03	eine Mesenterialdrüse stark vergrößert, käsig entartet, tuberkulös	a b	16.	IX. 03 id.	+ 12. XI. 03, keine Tuberkulose + 15. XI. 03, "
40	Stier	2	22.	X. 03	zahlreiche verkäste Tuberkelherde in einer Bronchialdrüse	a b	23.	X. 03 id.	+ 27. X. 03 + 25. XI. 03, keine Tuberkulose
41	Kuh	7	21.	XII. 03	zahlreiche verkäste Tuberkelherde in einer Bronchialdrüse	a b	9.	I. 04 id.	+ 21. I. 04, keine Tuberkulose bleibt gesund
42	"	7	22.	II. 04	tuberkulöse, verkäste, stechnadelkopfgroße Herde in je einer Mediastinal- und Mesenterialdrüse	a b	5.	III. 04 id.	bleibt gesund "

Tabelle II.

Lympe No. 1663, abgenommen, mit Glycerin versetzt und zerrieben am 12. XI. 02, am 13. XI. 02 Zusatz von 8 Tropfen einer dicken Emulsion aus einer verkästen Inguinaldrüse eines Meerschweinchens zu 20 g Lympe.

Meerschweinchen-impfung		Resultate	Sektionsbefund
Zahl	Datum		
a	14. XI. 02	+ 19. XI. 02	Milz und Inguinaldrüsen tuberkulös Milz mit zahlreichen Tuberkeln. Inguinaldrüsen stark vergrößert
b	25. XI. 02	+ 2. XII. 02	
c	10. XII. 02	+ 4. III. 03	
d	18. XII. 02	+ 25. I. 03	
e	6. I. 03	+ 12. I. 03	allgemeine Tuberkulose " "
f	22. I. 03	+ 2. VI. 03	
g	13. II. 03	+ 19. VII. 03	
h	8. III. 03	+ 17. III. 03	
i	19. III. 03	bleibt gesund	
k	25. III. 03	" "	

Impfungen nur äußerst selten beobachtet worden sind trotz unzähliger Vaccinationen, wozu noch hinzukommt, daß früher die Herstellung der Lympe weniger streng ohne Tuberkulinprobe und ohne nachfolgende Sektion der Tiere erfolgte.

Wir haben in der gesamten einschlägigen Literatur nur wenige Fälle von Hauttuberkulose im Anschlusse an Vaccination mitgeteilt gefunden [Besnier (12), Lennander (13), Kayser (14), Little (15)¹⁾], und auch in betreff dieser vereinzeltten Beobachtungen stimmen nicht alle Autoren darin überein, daß die Tuberkelbacillen direkt durch das Impfmateriel in die Wunde transportiert worden sind. Solche Fälle lassen sich besser durch die Möglichkeit erklären, daß die Tuberkelbacillen nicht durch die Lympe übertragen worden sind, sondern viel wahrscheinlicher auf anderen Wegen, wie durch Kratzen mit schmutzigen Fingernägeln [Preisich und Schütz (16)], durch unsaubere Kleider etc.

Daß aber eine tuberkulöse Infektion kleiner Wunden möglich ist, beweisen die zahlreichen Fälle, die in der Literatur mitgeteilt worden sind und die als sogenannte Impftuberkulose bezeichnet wurden.

Des weiteren haben wir uns gefragt, ob die Tatsache, daß die von tuberkulösen Tieren abgenommene Lympe frei von Tuberkelbacillen ist, etwa davon herrührt, daß die Kochschen Bacillen in der Lympe schnell abgeschwächt werden und zu Grunde gehen.

Obwohl schon von anderen Autoren bei Gelegenheit von Untersuchungen, die in anderer Absicht angestellt waren, bewiesen wurde, daß die Tuberkelbacillen ziemlich lange in der Lympe leben bleiben können, haben wir diese Versuche doch auch wiederholen wollen.

In der Annahme, daß die Alexine, die ohne Zweifel in der frischen Lympe vorhanden sind, einen bakteriziden Einfluß ausüben können, verwendeten wir zu unseren Versuchen ganz frische Lympe, setzten 2—3 Volumina Glycerin, wie üblich, zu und ließen dieselbe sofort nach der Abnahme verreiben.

20 ccm dieser Lympe wurden mit einigen Tropfen einer Emulsion vermischt, welche mit dem Eiter einer tuberkulösen verkästen Drüse

1) Diesen Beobachtungen können wir noch einen Fall anreihen, den Prof. Tavel vor einigen Jahren sah, wo bei einer Dame im Gefolge der Vaccination sich eine Hauttuberkulose an beiden Oberarmen entwickelte.

eines Meerschweinchens hergestellt war. Diese Mischung wurde bei einer Temperatur von 10–12° im Kühlschranke gehalten, von Zeit zu Zeit wurden Proben davon entnommen und Meerschweinchen damit geimpft.

Nach mehrmaliger Wiederholung der Experimente mit verschiedenen Lymphen kamen wir zu der Ueberzeugung, daß die Tuberkelbacillen in der Lymphe bei 10–12° C ziemlich lange am Leben bleiben und noch nach 3 Monaten im stände sind, bei Meerschweinchen Tuberkulose zu erzeugen, wie aus Tabelle II ersichtlich ist, welche aus verschiedenen ähnlichen Zusammenstellungen ausgewählt wurde (s. Tab.).

Obige Beobachtung steht im Gegensatz zu den Angaben von Blaxall, daß Tuberkelbacillen in der Lymphe nur 4 Wochen sich lebensfähig erhalten.

Natürlich unterliegen die Tuberkelbacillen in der Lymphe ebenso wie alle anderen Mikroben der Einwirkung des Glycerins, sie werden nach und nach in ihrer Virulenz abgeschwächt bis sie schließlich absterben. Die Abnahme der Virulenz äußert sich darin, daß die Tuberkulose bei denjenigen Meerschweinchen, welche mit einem der Glycerineinwirkung ausgesetzten Material geimpft worden sind, einen viel langsameren und weniger heftigen Verlauf zeigt als bei solchen Tieren, welche frisches Material erhalten haben.

Die künstliche Abschwächung der Virulenz durch Glycerin hat Behring bekanntlich neuerdings zur Herstellung eines Vaccins gegen Rindertuberkulose benützt.

Welche praktischen Schlüsse können wir nun aus unseren Untersuchungen ziehen?

Zunächst zeigen unsere Versuche, daß eine Uebertragung von Tuberkelbacillen durch die Lymphe nicht zu befürchten ist, indem auch für den Fall, daß die Lymphe von schwindsüchtigen Rindern stammt, dieselbe keine Kochschen Bacillen enthält.

Trotz dieser Ergebnisse möchten wir doch den Impfinstituten nicht raten, von der üblichen Regel abzugehen, Lymphe von schwindsüchtigen Tieren zu vernichten. Höchstens wäre noch der Gebrauch von Lymphe zu gestatten, die von Tieren stammt, bei denen die tuberkulösen Läsionen auf einzelne verkalkte Herde in den Lymphdrüsen beschränkt sind.

Für alle Fälle ist entschieden zu empfehlen, alle Vorsichtsmaßregeln anzuwenden, die geeignet sind, das Vertrauen der Impffreunde zu vermehren und die Verdächtigung der Gegner zu zerstreuen.

Literatur.

- 1) Meyer, Lothar, Zur Ehrenrettung Jenners humanisierter Lymphe. (Vierteljahrsschr. f. gerichtl. Med. Bd. XXXVII. 1882.)
- 2) — —, Ueber Impfungen Lungenschwindsüchtiger im vorgeschrittenen Krankheitsstadium mit humanisierter Lymphe. (Ibid.)
- 3) Acker, Lymphe Tuberkulöser enthält nie Tuberkelbacillen. [Diss.] Bonn 1884.
- 4) Jossierand, Contribution à l'étude des contaminations vaccinales. [Thèse.] Lyon 1884.
- 5) Strauss, La tuberculose est elle transmissible par la vaccine? (Gaz. hebdomadaire de médecine et chirurgie. 1885. No. 9.)
- 6) Peiper, Zur Frage der Uebertragung der Tuberkulose durch die Vaccination. (Intern. klin. Rundschau. Bd. II. 1889. No. 1.)
- 7) Toussaint, Infection tuberculeuse par les liquides de secretion et la sérosité des pustules de vaccin. (Revue vétérinaire 1881.)
- 8) Bernheim, Cow Pox et Tuberculose. (Atti del Congr. internazionale di Roma. 1894.)

- 9) **Abba**, Relazione del servizio batteriologico della città di Torino durante l'anno 1894. Torino 1896.
- 10) **Veratti**, Rendiconto del primo triennio di esercizio dell' Instituto Vaccinogeno di Pavia. (Boll. della soc. med. chir. di Pavia. 1900.)
- 11) **Onorato**, Absence du bacille de Koch dans le vaccin provenant de genisses tuberculeuses. (La sem. méd. 1902. No. 41.)
- 12) **Besnier** Lupus vaccinal. (Ann. de Dermat. et Syph. T. X. 1889.)
- 13) **Lennander**, Ett fall af hudtuberkulos som sannolikt inympasti sammanhang med Vaccinationen. (Upsala läkarefören Förh. Bd. XXXV. 1889.)
- 14) **Kayser**, Ueber Lupus des äußeren Ohres anscheinend in Zusammenhang mit der Vaccination. (Arch. f. Dermat. u. Syph. 1894.)
- 15) **Little**, Vaccinallupus. (Brit. Journ. of Derm. 1901. März.)
- 16) **Preisich und Schütz**, Infektiosität des Nagelschmutzes bei Kindern in Bezug auf Tuberkulose. (Berl. klin. Wochenschr. Bd. XXXIX. No. 20.)
- 17) **Blaxall**, Weitere Mitteilungen über Glycerin-Kälberlymphe. (Centralbl. f. Bakt. etc. I. Abt. 1899. p. 777.)

Nachdruck verboten.

Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität.

[Aus dem hygienischen Institute der deutschen Universität Prag
(Vorstand: Prof. Hueppe).]

XI. Erster Bericht über Milzbrandschutzimpfungen an Schafen.

Von Professor Dr. **Oskar Ball**, Assistenten des Institutes.

Das Folgende ist bis auf minder wichtige Veränderungen und Weglassungen der wörtliche Abdruck eines ersten Berichtes an das k. k. österreich. Ministerium des Innern, welches die Mittel zur Durchführung der Versuche in dankenswertester Weise bewilligt hatte. Obwohl ein abschließendes Urteil, namentlich über die Dauer des erreichten Impfschutzes, danach noch nicht möglich ist, bieten diese Versuche doch einige neue Gesichtspunkte, die ihre Veröffentlichung rechtfertigen. — Da die Unterbringung der zu den Versuchen verwendeten Schafen an anderen Orten Schwierigkeiten machte, mußten die recht dürftigen Unterkunftsräume, die das Institut darbot, so gut es ging, zur Aufnahme derselben hergerichtet werden. War dadurch auf der einen Seite der Vorteil einer ständigen, genauen Ueberwachung erreicht, so mußten dafür erhebliche Uebelstände in Kauf genommen werden. Die Schafe waren sämtlich Weidetiere, kamen durch den langen Transport in sehr erschöpftem Zustande an und mußten in der heißesten Zeit dieses heißen Sommers in engen Verschlüssen eines der natürlichen Beleuchtung und namentlich Lüftung so gut wie ganz entbehrenden Stalles untergebracht werden. Die Vorbehandlung mußte meist schon zu einer Zeit begonnen werden, wo eine Erholung von den Transportmühsalen noch nicht eingetreten war. Eine Möglichkeit, den Schafen von Zeit zu Zeit Bewegungsfreiheit zu gewähren, war nicht vorhanden, auch die Ernährung konnte den Umständen nicht ganz gerecht werden.

Was die Grundlage für die Schutzimpfungsmethode betrifft, so ist darüber bereits im X. Abschnitt dieser Untersuchungen ¹⁾ Näheres mit-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVI. 1904. No. 2 u. 3.

geteilt worden. Es handelt sich dabei um eine Immunisierung mittels des Lysins (im Sinne Kruses) des Milzbrandbacillus, welches in der sterilisierten Oedemflüssigkeit milzbrandiger Tiere gewonnen werden kann. Dadurch sollte nach der entwickelten Vorstellung „Antilysin“ im Körper des behandelten Tieres gebildet werden und dieses dann auch vor der Infektion mit lebenden Bacillen geschützt sein.

Versuche an Kaninchen und Vorversuche an Schafen hatten die Richtigkeit dieser Voraussetzung ergeben: die in der erwähnten Weise behandelten Tiere waren nicht nur selbst immun geworden, sondern besaßen auch ein Serum, das normale Tiere zu schützen vermochte. Dieses Serum besaß, der Theorie entsprechend, trotz ausgesprochenster Schutzwirkung keine der Eigenschaften eines bakteriziden Immunserums.

Weitere Einzelheiten werden im Anschlusse an die mitzuteilenden Versuche mit Schafen besprochen werden; sie sind zum Teil erst während derselben gewonnen worden. Was sich aber aus der ganzen Darlegung sofort ergibt, ist, daß eine Eigenimmunisierung (aktive Immunität) durch die Oedembehandlung angestrebt wird. Sie unterscheidet sich von den anderen hierfür gebräuchlichen Methoden, der Pasteurschen mit ihren Abänderungen und der Sobernheimschen, die eine Verbindung von aktiver und passiver Immunisierung darstellt, grundsätzlich dadurch, daß die Mitwirkung lebender Bacillen (virulenter wie abgeschwächter) vollkommen wegfällt.

Tabelle I.

No.	Vorbehandlung	Infektion	Ergebnis
IV	8. Juni 5 ccm Kaninchenoedem subkutan am r. Schenkel	am rechten Schenkel	Vorbehandlung ohne jede Reaktion vertragen, doch zeigt das Tier am 12. Juni Parese der Hinterbeine und Zeichen von Drehkrankheit. — 33 Std. nach der Infektion leichte Rötung an der Infektionsstelle, aber kein eigentliches Oedem. Stirbt 48 Std. nach der Infektion. Kein Oedem, nur etwas blutiger Eiter an der Impfstelle. Milz kaum vergrößert. Im Blute und den Organen reichliche Bacillen. Im Hirn eine mit fast klarer Flüssigkeit erfüllte Wurmblase.
V	8. Juni 5 ccm Kaninchenoedem subk. am r. Schenkel. 12. Juni dgl.	am rechten Schenkel	Vorbehandlung ohne jede Reaktion vertragen. Ist 48 Std. nach der Infektion schwer krank, ohne örtliche Erscheinungen zu zeigen. Wird am 19. Juni sichtlich besser, ist am 23. Juni erholt.
VI	8. Juni 10 ccm Kan.-Oed. subk. am recht. Schenkel. 12. Juni dgl.	am rechten Schenkel	Vorbehandlung wie Infektion ohne jede Reaktion vertragen.
VII	Genau wie bei VI.	am linken Schenkel	Dto.
VIII	8. Juni 15 ccm Kan.-Oedem am rechten Schenkel	am rechten Schenkel	Dto.
XIII (Kontrolle)	—	am rechten Schenkel	24 Std. nach der Infektion deutliches, nach 36 Std. sehr starkes blutiges Oedem. Tod nach höchstens 42 Std. an typischem Milzbrand.

Der erste Versuch umfaßt 6 Schafe einer gewöhnlichen ungarischen Rasse. Fünf dieser Tiere wurden in verschiedener, aus Tabelle I ersichtlicher Weise mit Oedem milzbrandiger Kaninchen vorbehandelt. Das letzte Tier (No. XIII) diente als Kontrolle für diesen wie für einen gleichzeitigen, die übertragene (passive) Immunisierung betreffenden, in Tabelle II angeführten Versuch mit 4 Schafen der gleichen Rasse. Das dazu verwendete Serum stammt von einem seit langer Zeit mit Oedem behandelten Schafe No. III (s. a. a. O. p. 271).

Tabelle II. (Uebertragene Immunität mit Serum von Schaf III.)

No.	Serumbehandlung	Infektion	Ergebnis
IX	16. Juni 5 ccm Serum subkutan am rechten Schenkel	1 Std. später 2040 Bacillen am linken Schenkel	Zeigt am 19. Juni ein kleinerbsengroßes, hartes Infiltrat an der Einstichstelle des linken Schenkels, das sich unter Verkleinerung bis zum 27. Juni nachweisen läßt. Das Allgemeinbefinden wies niemals eine Störung auf.
X	16. Juni 10 ccm wie IX.	wie IX.	19. Juni geringes Oedem, das am folgenden Tage gut abgegrenzt und hart ist; überdies mäßige Drüsenschwellung. Alles verschwand und am 27. Juni war das Tier ganz normal. Das Allgemeinbefinden war nie gestört gewesen.
XI	16. Juni 5 ccm Serum, dem unmittelbar vor der Einspritzung 2040 Bacillen zugesetzt werden, subkutan am rechten Schenkel		Ohne jede Reaktion verblieben.
XII	16. Juni 10 ccm Serum, sonst wie XI.		Ohne jede Reaktion verblieben.
XIII (Kontrolle)	—		S. Versuch Tabelle I.

Es sei sofort die Mitteilung des 3. Versuches angeschlossen, der den Zweck hatte, festzustellen, ob die offenkundig erlangte Immunität der Schafe von Bestand sei. Da es der beschränkten Räumlichkeit wegen nicht möglich war, alle Tiere zu untersuchen, so wurden nur einige derselben gewissermaßen als Stichproben ausgewählt. Leider ist durch einen Dosierungsfehler die Menge der Bacillen etwas klein ausgefallen.

Tabelle III.

No.	Infektion	Ergebnis
V VI X XI XIV (Kontrolle)	30. Juni 592 Bacillen subkutan am linken Schenkel	Ohne jede Reaktion geblieben. Stirbt am 4. Tage mit riesigem Oedem und typischem Milzbrand.

Was zunächst die übertragene Immunität betrifft, so vermochte das Serum von Schaf III, wie die ausgesprochene Schutzkraft desselben für Kaninchen voraussehen ließ, auch Schafe vollständig oder nur mit leichteren örtlichen Erscheinungen zu schützen. Die Schwere der In-

fektion und die sehr große Empfindlichkeit der verwendeten Rasse geht aus der kurzen Lebensdauer des Kontrollschafes klar hervor.

Eine genaue Wertbestimmung der Serumwirkung lag nicht im Versuchsplane, der zunächst nur festzustellen hatte, daß das, was für Kaninchen bereits gefunden war, auch für Schafe gelte. Doch ist kaum zu bezweifeln, daß die geringste schützende Menge niedriger als 5 ccm gewesen wäre, wofür das Ausbleiben jeder Reaktion, zumindestens bei gleichzeitiger Bacillenserumeinspritzung, spricht. Aus dem Umstande, daß bei getrennter Einführung Oedeme u. dgl. beobachtet wurden, schließen zu wollen, daß das Serum bakterizid, etwa nach Art eines Typhusimmunserums, gewirkt hätte, wäre verfehlt. Tatsächlich fehlte ihm im ganz frischen Zustande jede Spur von Bakterienabtötung.

2 ccm des ganz frischen, 2 Stunden alten Serums wurden mit 0,02 ccm der zur Injektion der Schafe verwendeten Bouillonkulturverdünnung versetzt und bei 37° gehalten. In je einer Oese waren enthalten: Bei Beginn 184, nach 24 Stunden 291 und nach 5 Stunden 10 000, nach 24 Stunden ∞ Bacillen.

Erklärungsmöglichkeiten liegen ja auch ohne Annahme einer schnellsten Bacillenvernichtung nahe genug.

Einigermassen überraschend kam das Ergebnis, daß die mittels Serum geschützten Tiere, auch dann, wenn die erste Infektion, wie bei No. XI, keinerlei Reaktion ausgelöst hatte, noch nach 14 Tagen vollständig unempfindlich waren. Kaninchenversuche hatten im Gegenteil eine nicht längere Dauer des Impfschutzes als höchstens eine Woche ergeben und zwar auch dann, wenn gleichartiges Serum (Kaninchenimmunserum für Kaninchen) verwendet worden war. Da diese Verhältnisse unter Umständen auch von praktischer Wichtigkeit werden können, so ist eine Ausdehnung der Versuche in Aussicht genommen. Immerhin muß sich das Hauptaugenmerk auf die Erlangung von Eigenimmunität richten, da nur diese nach den bisherigen Kenntnissen eine längere Dauer des Impfschutzes gewährleistet. In dieser Richtung ist, soweit die bloße Dauer in Betracht kommt, zur Zeit ein abschließendes Urteil noch nicht möglich. Wohl aber geht aus Versuch I der vollständig schützende Erfolg der Oedembehandlung hervor und weiter aus Versuch III, daß mehr wie 3 Wochen danach noch völlige Immunität (allerdings gegen eine geringere Bacillenmenge) besteht. Der einzige Verlust bei diesen mit Kaninchenödem behandelten Schafen betraf gerade dasjenige Tier, welches das wenigste Oedem erhalten hatte. Obwohl dasselbe auch anderweitig krank war, was, wie später noch deutlicher werden wird, nicht ohne Einfluß ist, so darf man doch das Ausbleiben des Impfschutzes mit Sicherheit auf die zu geringe Menge des eingeführten Oedems beziehen; denn auch das Schaf mit der nächsthöheren Gabe überstand erst nach schwerer Krankheit. Die beiden Schafe VI und VII, bei denen Vorbehandlung und Bacillenimpfung an gleichen und verschiedenen Körperstellen erfolgten, beweisen, daß es sich wirklich um eine allgemeine, nicht um eine örtliche Unempfindlichkeit handelt, und schließlich Schaf VIII, daß bereits die einmalige Einführung einer genügend großen Oedemmenge hinreichend sein kann. Freilich ist die Bemessung der nötigen Menge, wie sich später herausstellen sollte, nicht ganz einfach und nur nach der Anzahl von Kubikcentimetern durchführbar.

Sämtliche Schafe bewiesen ferner, daß die Oedemeinspritzung ohne jegliche Schädigung, überhaupt ohne jede Erscheinung, örtlich oder allgemein vertragen wird.

Zu den folgenden beiden Versuchen wurden Siebenbürger Wollschafe verwendet, da ja eine Schutzimpfung gegen Milzbrand wohl hauptsächlich bei besseren, der Wolle wegen im großen gezüchteten Tieren angewendet werden dürfte. Ihre Widerstandskraft war übrigens deutlich höher als die der früher benutzten Rasse. In mehrfacher Hinsicht weichen diese Reihen gegen die erst mitgeteilten ab. Die Infektion war eine schwerere, nicht nur der Zahl der Bacillen nach, sondern auch deshalb, weil die Kulturen, die nunmehr zur Anwendung kamen, zwei- bzw. dreimal durch den Schafkörper hindurchgegangen waren. Ueberdies wurden in Annäherung an die natürlichen Verhältnisse, wo die Infektion wohl größtenteils durch Sporen erfolgt, Agarkulturen verwendet.

Der Hauptunterschied lag aber in der Art der Vorbehandlung, die nicht mehr mit der Oedemflüssigkeit milzbrandiger Kaninchen, sondern der von Schafen durchgeführt wurde, also mit einer gleichartigen Flüssigkeit. Es ist nach Erfahrungen der letzten Jahre immer wahrscheinlicher geworden, daß hier ein vielleicht noch nicht genug beobachteter, aber sehr wichtiger Teil der Immunitätsforschung vorliegt. Es sei hier nur kurz auf die Untersuchungen von Wood und Grassberger und Schattenfroh, Toxine betreffend, sowie auf die Erklärungsversuche hingewiesen, die Ehrlich und seine Schule für die bessere Schutzwirkung gleichartiger (homologer) bakterizider Immunsera gab. Scheinbar nur ganz lose zusammenhängend, deuten solche Beobachtungen doch auf einen tieferen, im einzelnen erst zu erforschenden Zusammenhang, auf „ein geheimes Gesetz“ hin.

Dies gilt offenbar auch für die Milzbrandimmunität. Es gelingt nur sehr schwer, Meerschweinchen mit Kaninchenödem zu immunisieren und auch dann nur gegen leichtere Infektionen. Viel leichter geht das, wenn man Oedem oder Peritonealexsudat milzbrandiger Meerschweinchen benutzt. Auch ist die Schutzwirkung des Serums eines Kaninchens, das mit Meerschweinchenödem behandelt ist, für Meerschweinchen entschieden höher, als wenn das Serumtier mit Kaninchenödem immunisiert war. Dieses Ergebnis steht fest, obwohl die bezüglichen Versuche noch nicht abgeschlossen sind, was bei der unglaublichen Empfindlichkeit der Meerschweinchen gegen Milzbrand leicht erklärlich ist.

Eine „Lysintheorie“ der Milzbrandimmunität kann sich, vorläufig wenigstens, leicht mit dieser Tatsache abfinden. Denn es ist klar, daß der Abwehrstoff, den der Bacillus, als Stoffwechselprodukt etwa, wie der Tetanusbacillus sein Gift, ausscheidet, von den Schutzvorrichtungen abhängen muß, die er im Tierkörper zu überwinden hat. In vielen Punkten übereinstimmend, kann in anderen das Milzbrandlysin aus dem Kaninchen von dem aus dem Leibe eines Schafes abweichen. Gerade letztere können aber für die Immunisierung damit bedeutungsvoll werden.

Dieser Gedankengang, dem man die theoretische Berechtigung nicht wird absprechen können, leitete den folgenden Versuch, aber er leitete ihn zunächst in eine falsche Richtung. Es wurde nämlich vorausgesetzt, daß das gleichartige Schafödem von Schafen sehr leicht verarbeitet werden könne und daß deshalb sehr frühzeitig Immunität eintreten müsse. In dieser ganz sicheren Erwartung wurde ein größerer Versuch voreilig unternommen, der dann auch entsprechend ausfiel. Dabei wurde neben reinem Oedem auch eine Mischung von Oedem und Blut eines milzbrandigen Schafes als Impfstoff verwendet (s. Tab. IV).

Betrachtet man diese Reihe lediglich als Schutzimpfungsversuch, so ist darüber wenig zu sagen: von 6 vorbehandelten Tieren starben 5 an

Milzbrand und das letzte überlebte erst nach schwerer Krankheit, der Mißerfolg ist ein vollständiger.

Tabelle IV.

No.	Vorbehandlung	Infektion	Ergebnis
XV	7. Juli 3 ccm Oedemflüssigkeit von Schaf XIV subkutan am linken Schenkel	11. Juli 5424 Bacillen, dann 2080 Sporen subkutan am rechten Schenkel	13. Juli geringes Oedem. Tod in der Nacht vom 13.—14. Juli nach 62—70 Std. Sehr geringes, zum Teil eiteriges Oedem. Milz nicht vergrößert. Bacillen überall in Menge.
XVI	7. Juli 9 ccm Oedem wie XV		13. Juli schwaches Oedem. Tod am 13. Juli nach 55 Std. mit dem gleichen Befunde wie bei XV.
XVII	7. Juli 15 ccm Oedem wie XV		Tod nach 44 Std. Bacillenreichtum überall außerordentlich groß. Sonst wie XV.
XVIII	7. Juli 9 ccm einer Mischung aus 1 Teil Oedem und 3 Teilen Blut v. Schaf XIV subkutan am linken Schenkel		14. Juli geringes Oedem. 15. Juli Oedem beginnt sich nach oben hin abzugrenzen. Krank. 16. Juli andauernd krank. Oedem hart und abgegrenzt. 19. Juli Oedem bis auf ein geringes Infiltrat aufgesaugt. Erholt.
XIX	7. Juli 15 ccm Mischung aus 1 Teil Oed. und 4 Teilen Blut subkutan am linken Schenkel		10. Juli mäßiges Oedem. Tod in der Nacht vom 13.—14. Juli, nach 62—70 Std. Befund wie bei XV.
XX	7. Juli 5 ccm der gleichen Mischung wie XIX		13. Juli geringes Oedem. Tod am 14. Juli nach 74 Std. Oedem etwas mehr entwickelt, sonst wie bei XV.
XXI (Kontrolle)	—		Bereits 12. Juli Oedem, das am 14. Juli sehr vergrößert ist und wie ein Sack vom Schenkel herabhängt. Tod am 14. Juli nach 77 Std.

Untersucht man die Gründe desselben, so können sie weder in der schlechten Eignung des Schafödems zur Vorbehandlung noch in der Art der Infektion gesucht werden. Denn dann hätte, von späteren Versuchen ganz abgesehen, überhaupt kein Tier am Leben bleiben dürfen. Es bleibt als Ursache einzig die Annahme, daß die zwischen Vorbehandlung und Impfung verflossene Zeit zu kurz war. Das ist nicht ohne Wichtigkeit, weil es geeignet erscheint, die Pasteursche Schutzimpfung mittels abgeschwächter lebender Bacillen mit der Oedembehandlung in Beziehung zu setzen. Denn bei der ersteren steht es fest, daß die Immunität erst längere Zeit (8—12 Tage) nach Verschwinden der örtlichen Krankheitserscheinungen auftritt. Das Aufsaugen des bei der Pasteurschen Methode auf natürliche Weise gebildeten Oedems entspricht aber der Einspritzung des künstlich von einem anderen Tiere gewonnenen. Auch zu dessen Verarbeitung ist ein längerer Zeitraum erforderlich. Man kann danach von vornherein hoffen, daß auch in anderer Hinsicht, namentlich in der Dauer des erlangten Impfschutzes, Uebereinstimmung zwischen beiden Methoden bestehen wird.

Noch ein Umstand muß bei Betrachtung des Versuches IV auffallen, nämlich der auffällig rasche Verlauf der Krankheit bei Schaf XVII, also demjenigen Tiere, welches das meiste Oedem erhalten hatte. In ziemlich regelmäßiger Reihe starben auch die anderen Tiere, je nach

der Größe der Oedemgaben, früher als das Kontrolltier. Es dürfte aber gut sein, zunächst den letzten der bisher im größeren Maßstabe angestellten Versuche zu besprechen.

Die äußeren Verhältnisse lagen bei diesem insofern besonders ungünstig, als die durch Hitze und Transport stark mitgenommenen Schafe in einem sehr elenden Zustande ankamen und dabei infolge äußerer Umstände sofort, ohne Erholungsfrist, in Behandlung genommen werden mußten. Zwei Tiere (XXIII und XXVI) husteten von allem Anfang an und XXIII zeigte andauernd verminderte Freßlust. Trotzdem wurde die Vorbehandlung, wie ausnahmslos immer, ohne jede Störung vertragen. In diesem Versuche wurde auch das sterilisierte Blut milzbrandiger Schafe, teils für sich allein, teils in Mischung mit Oedem, untersucht. Die Rasse der Schafe war die gleiche wie im IV. Versuche (s. Tab. V).

Von diesen 10 Schafen handelte es sich bei No. XXIII um ein krankes Tier, bei dem die Sektion den sicher schon sehr alten Krankheitsherd aufzudecken vermochte. Der Tod desselben kann nicht überraschen, da es ja zu den alten Erfahrungen gehört, daß kranke und geschwächte Tiere nicht nur jeder Ansteckung leichter zugänglich sind, sondern sich auch nur schwer oder gar nicht immunisieren lassen. Unter günstigen äußeren Umständen wäre dieses Schaf überhaupt nicht zum Versuche verwendet worden und kein Züchter hätte wohl ein solches Tier lange in seiner Herde behalten und schützimpfen lassen. Aber daraus, daß auch ein von vornherein krankes Individuum die Einspritzung von Oedem bzw. Blutödemmischung ohne jeden sichtlichen Schaden vertrug, geht deren Harmlosigkeit an sich unzweideutig hervor. Harmlosigkeit an sich bedingt aber noch nicht die gleiche Eigenschaft in Verbindung mit den lebenden Bacillen. Das geht schon aus dem Begriffe des Lysins im Sinne Kruses hervor und wird bewiesen durch den Tod von Schaf XXIX, der aber erst später besprochen werden kann.

Daß Krankheit eines zu immunisierenden Tieres von Einfluß auf den Erfolg der Schutzimpfung ist, beweist weiter Schaf XXVI, das wie XXVIII an einer Erkrankung der Atemwege litt und das einzige von den mit Oedem behandelten Tieren blieb, das ein Haften der Milzbrandinfektion, allerdings ohne Störung des Allgemeinbefindens, erkennen ließ.

Einige allgemeine Erörterungen mögen hier Platz finden. Tiere wie die Schafe XXIII und XXVI sind es vermutlich, welche den Schutzimpfungen nicht nur gegen Milzbrand, sondern gegen jede Seuche Schwierigkeiten bereiten. Unfähig, die zur Erzeugung der Immunität nötige Reaktion ihres Körpers hervorzubringen, sind sie es, welche nicht nur die Statistik der Impferfolge verschlechtern (denn an der Wirksamkeit der alten Pasteurschen wie der neuen Sobernheimischen Methode ist ja an sich nicht zu zweifeln), sondern auch die Impfverluste bei allen denjenigen Verfahren bedingen, welche sich lebender Krankheitserreger bedienen. Das gilt ebensowohl für Milzbrand wie für Schweinerotlauf. — Impfverluste sind bei der hier angewendeten Oedembehandlung mit Sicherheit auszuschließen, nicht aber Verluste durch Infektion, sobald die angestrebte „Antilysinbildung“ ausbleibt. Bei den Tieren des Versuches V lag eine grobe Beschädigung oder sichtbare Zeichen der Krankheit von Organen vor und unter normalen Verhältnissen blieben wohl solche Tiere außer Betracht. In anderen Fällen kann aber die die Immunisierung hindernde Krankheit ganz unbedeutend sein und übersehen werden oder es liegt überhaupt nur jener rätselhafte,

Tabelle V.

No.	Vorbehandlung	Infektion	Ergebnis
XXII	25. Juli 2,5 ccm Oed. von Schaf XXI	<p>Alle Einspritzungen wurden an der Innenseite des linken Schenkels unter die Haut gemacht</p> <p>4. August 17 300 Bacillen, davon 1120 Sporen unter die Haut des rechten Schenkels</p>	Ohne jede Reaktion verblieben.
XXIII	25. Juli 7,5 ccm einer Mischung aus 1 Teil Oedem und 2 Teilen Blut von Schaf XXI		Das Tier hatte von allem Anfange an gehustet, verminderte Freßlust gezeigt und sich nicht erholen können. Tod ca. 46 Stunden nach der Impfung. An der Impfstelle ganz geringes eiteriges Oedem. Milz mäßig vergrößert. Im Unterlappen der linken Lunge ein gut nußgroßer, mit dickem Eiter erfüllter Absceß, von hepatisiertem Lungengewebe umgeben. Eiterig-schleimiger Ausfluß aus der Nase. Milzbrandbacillen im Blute und den Organen in großer Zahl vorhanden.
XXIV	25. Juli 2,5 ccm Oed. wie XXII. 30. Juli dgl.		Ohne jede Reaktion verblieben.
XXV	25. Juli 7,5 ccm einer Mischung wie XXIII. 30. Juli dgl.		Dto.
XXVI	25. Juli 5 ccm Oedem wie XXII		Das Tier hatte von Anfang an gehustet und war krank gewesen, hatte sich aber dann, obwohl der Husten andauerte, sichtlich erholt. Am 7. August leichtes Oedem, das sich am 8. August verhärtete und am 10. August bis auf ein geringes Infiltrat verschwunden war. Das Allgemeinbefinden ließ keinerlei Störung wahrnehmen.
XXVII	25. Juli 15 ccm Mischung wie XXIII		Ohne jede Reaktion verblieben.
XXVIII	25. Juli 5 ccm Oedem wie XXII. 30. Juli dgl.		Dto.
XXIX	25. Juli 10 ccm Oedem wie XXII		Tod 40—46 Std. nach der Infektion. An der Impfstelle keine sichtbare Reaktion. Milz deutlich, aber nur wenig vergrößert. Darin und im Blute Bacillen, etwas spärlicher, als dies sonst bei Schafmilzbrand der Fall ist.
XXX	25. Juli 7,5 ccm Blut von Schaf XXI. 30. Juli dgl.		Das Tier war am 2. und 3. Tage nach der Infektion schwer krank; geringes Oedem trat erst am 8. August auf, um am nächsten Tage zu verschwinden. Am 10. August war das Tier bis auf verminderte Freßlust erholt, am 15. August war es wieder ganz gesund.
XXXI (Kontrolle)	—		Am Tage nach der Infektion diffuses Oedem, das sich aber nicht stark vergrößerte. Tod nach 56 Std. an typischem Milzbrand.

aber sicher vorkommende Körperzustand vor, den man als „individuelle Disposition“ bezeichnet.

Man kann ungescheut noch einen Schritt weiter gehen und von vornherein als wahrscheinlich annehmen, daß derartige Tiere einer Herde

es sind, welche Seuchen größeren Umfanges erst zu stande kommen lassen. Sie unterliegen zu allererst und widerstandslos dem in der Regel wohl nur in sehr geringer Menge vorhandenen Ansteckungsstoffe, der dann, der Zahl und Ansteckungstüchtigkeit nach, verstärkt auch die anderen Tiere befallen kann. Das sind Verhältnisse, zu deren Betrachtung Vorkommnisse wie bei Schaf XXIII auffordern und mit denen man zu rechnen hat.

Beachtung verdient ferner Schaf XXX, das ausschließlich mit sterilisiertem Milzbrandblute vorbehandelt war und dadurch allein widerstandsfähiger wurde. Daran knüpft sich ein geschichtliches, theoretisches und praktisches Interesse. Ersteres, weil es eine sehr alte, von Toussaint herrührende Beobachtung erklärt. Bekanntlich gilt seit Pasteur allgemein, daß die von Toussaint eingeführte Schutzimpfung mit erhitztem Milzbrandblute im Falle ihres Gelingens nur auf eine Abschwächung der am Leben gebliebenen Bacillen zurückzuführen sei, also nichts anderes als eine unvollkommene Pasteursche Methode darstelle. Hier kann aber von lebenden Bacillen nicht die Rede sein. Die theoretische Bedeutung liegt darin, daß der Lysintheorie gemäß im ganzen, der Krankheit erlegenen Körper Lysin vorhanden sein müsse, wenngleich dieses an der ersten Ansiedelungsstelle und überhaupt dort, wo ein besonderer Widerstand der Schutzvorrichtungen vorliegt, der Menge nach stärker ausgebildet sein wird. Dementsprechend ist eine immunisierende Wirkung des Blutes zwar vorhanden, aber auch nur so schwach ausgesprochen, daß das damit behandelte Tier erst nach schwerer Krankheit überlebte und man kaum daran denken wird, Blut allein zur Immunisierung zu verwenden. Wohl aber kann es in Verbindung mit Oedem versucht werden und das ist die praktisch wichtige Seite der Frage, welche auch die erwähnten Versuche mit Oedemblutmischungen veranlaßt hat. Denn während Oedemflüssigkeit von einem Tiere nur in beschränkter Menge zu gewinnen ist, läßt sich Blut, das bekanntlich bei Schafmilzbrand nur locker gerinnt, in sehr großer gewinnen, so daß durch Mischung beider sich ein erhebliches Maß von Impfstoff ergibt.

Uebrigens ist diese Rücksichtnahme auf möglichst wohlfeile Herstellung der Impfflüssigkeit zum großen Teil gegenstandslos geworden, seit durch Versuch V bewiesen ist, wie wenig davon zur Immunisierung eines Schafes ausreicht. Tatsächlich ist ja No. XXII durch eine einmalige Einspritzung von $2\frac{1}{2}$ ccm vollständig geschützt worden. Die wiederholte Einführung derselben Menge bei No. XXIV konnte natürlich auch nicht mehr leisten.

Immerhin wird für weitere Versuche — es sei denn, daß eine nur einmalige Oedembehandlung auch langandauernde Immunität verleiht — mit einer mehrfachen Einspritzung des Impfstoffes zu rechnen sein. Das hängt eng mit den Eigentümlichkeiten des Oedems zusammen, wie sie aus Versuch IV und V sehr klar hervorgehen. In beiden Versuchen starben die Tiere, welche das meiste Oedem erhalten hatten, und zwar auffällig viel früher als die Kontrollen. Was Versuch IV betrifft, so ist schon im vorhergehenden darauf hingewiesen, daß die Infektion der Behandlung zu früh gefolgt war. Bei dem Tiere, das 15 ccm Oedem erhalten hatte, ist dann der frühe Tod einfach so zu erklären, daß zur Zeit der Bacilleneinspritzung noch freies Lysin im Blute kreiste, die Ansiedelung des Milzbrandes also durch Aufhebung der normalen Schutzvorrichtungen begünstigt war. Soweit die übrigen Teile des Versuches, allerdings in nicht so deutlicher Weise, ähnliches erkennen lassen,

muß man annehmen, daß bei ihnen entweder die geringere Oedemmenge unzureichend war, um die lytische Wirkung hervortreten zu lassen, oder daß es danach bereits zu einer Verarbeitung des eingespritzten Oedems, zu einer freilich nicht genügenden Ausbildung von Antilysin gekommen war.

Die letztere Annahme hat vielleicht die größere Wahrscheinlichkeit für sich; einmal, weil Schaf XVIII des IV. Versuches schließlich am Leben blieb, dann aber, weil Versuch V auf derartige Verhältnisse unmittelbar hinweist. Hier war die Zeit zwischen erster Behandlung und Infektion hinreichend gewesen, um einer ganzen Anzahl von Schafen die Ausbildung des nötigen Schutzes zu ermöglichen: nur das Tier, dem die größte Oedemmenge eingeführt worden war, hatte dies nicht durchsetzen können. Daraus folgt, daß der Körper eines normalen Tieres innerhalb einer begrenzten Zeit nur eine bestimmte Menge von Oedem zu verarbeiten imstande ist; wird diese überschritten, so kommt es statt zur Ausbildung von Immunität (durch Antilysin) zur Ueberempfindlichkeit (durch Vorhandensein der eingespritzten Lysine).

Wie aber Schaf XXVIII deutlich erkennen läßt, kommt es nicht nur auf die Menge des Oedems an, sondern auch auf die Art der Einführung desselben. Auch dieses Tier hatte 10 ccm des gleichen Oedems erhalten, aber in zwei getrennten Gaben. Daraus ergibt sich eine für die Immunitätslehre ganz neue Erscheinung, die auch im Kaninchenversuche, allerdings lange nicht so deutlich, nachgewiesen werden kann: das Oedem milzbrandiger Tiere stellt nach Abtötung aller und Entfernung des größten Teiles der darin enthaltenen Bacillen eine Flüssigkeit dar, die für normale Tiere an sich ganz unschädlich ist und die Eigenschaften eines Giftes nicht hat. Nach Einspritzung derselben in bestimmter, nicht zu großer Menge entsteht nach Verlauf von 8—10 Tagen Immunität auch gegen sehr schwere Bacilleninfektion. Ist aber die Zeit zu kurz gewesen, oder wird innerhalb der richtigen Zeit eine bestimmte Menge des Oedems überschritten, so ist der Körper unfähig, dieselbe zu verarbeiten und es tritt Ueberempfindlichkeit auf¹⁾. Die gleiche Menge führt aber anstandslos zur gewünschten Immunität, sobald sie in Zwischenräumen getrennt eingeführt wird, wenn also gewissermaßen zuerst eine Immunisierung gegen das im Oedem enthaltene „ungiftige Milzbrandgift“ stattfindet.

1) Man hat bereits mehrfach die Gifte eines Krankheitserregers in den Körperflüssigkeiten infizierter Tiere gesucht, ohne zu einem wesentlichen Erfolge kommen zu können. Nicht nur bei Milzbrand sind die krankhaften Körpersäfte tatsächlich an sich ungiftig. Ihre Eigentümlichkeiten treten aber hervor, wenn sie mit den Bacillen zusammen zur Wirkung kommen können. Da dies für Krankheitserreger festgestellt werden konnte, die in Bezug auf ihre Wirkung im Tiere anscheinend weit voneinander abweichen, so scheint es sich um ein allgemeines Gesetz zu handeln. Im allgemeinen tritt zunächst die die Infektion begünstigende lytische Wirkung am deutlichsten hervor. Festgestellt ist dies bisher für Milzbrand, Tuberkulose (Wiener klin. Wochenschr. 1904. No. 30) und für Typhus. Bei letzterem äußert sich die Lysinwirkung in mehrfacher Weise sehr klar: 1) Nicht tödliche (wenn auch nicht beliebig kleine) Mengen von Bacillen werden in Verbindung mit dem an sich unschädlichen Lysin tödlich. 2) Bei Anwendung tödlicher Mengen ändert sich unter dem Einflusse des Lysins der Sektionsbefund, namentlich die Zellverhältnisse beim intraperitoneal infizierten Meerschweinchen. 3) Das Lysin vermag in Verbindung mit Bacillen die durch Einspritzung eines „bakteriziden Immunserums“ verliehene Immunität zu brechen. Die genauere Mitteilung dieser den Typhus betreffenden Versuche, die nicht ohne Einfluß auf die Auffassung des Wesens der Typhusimmunität bleiben konnten, dürfte um Weihnachten erfolgen.

(Die weiteren Ausführungen des Berichtes über Vorteile der Methode, Kosten und Haltbarkeit des Oedems u. dgl. haben vorläufig kein unmittelbares Interesse und sollen erst in der Zusammenfassung aller Versuche mitgeteilt werden.)

Nachdruck verboten.

Zur Frage der Bakterizidie durch Alkohol.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. u. k. Militär-sanitätskomitees in Wien (Vorstand: Oberstabsarzt Dr. L. Kamen).]

I. Mitteilung.

Von Dr. Victor Russ, k. u. k. Oberarzt.

(Schluß.)

Harrington und Walker (27) stellten Versuche mit an Seidenfäden angetrockneten Bakterien (*B. coli*, *B. pyocyaneus*, *B. typhi*, *B. diphtheriae*, *anthracis*, dann *Staphylococcus pyogenes aureus* und *albus*) oder in feuchtem Zustande an. Es ergab sich hierbei:

1) Auf trockene Bakterien ist absoluter bis 70-proz. Alkohol wirkungslos.

2) Sporenfreie Bacillen, feucht mit 40-proz. Alkohol zusammengebracht, werden in 5 Minuten getötet. Manche Konzentrationen wirken schon nach 1 Minute.

3) Alkohol unter 40 Proz. wirkt langsam und unsicher.

4) Als geeignetste Konzentration gegen trockene wie feuchte Bakterien erweisen sich 60—70 Proz.

5) Die Hülle der trockenen Bakterien ist für hoch konzentrierten Alkohol undurchdringbar. Wasserhaltiger Alkohol gibt sein Wasser erst an die Hüllen ab und dann erst wirkt der Alkohol.

6) Bei feuchten Bakterien hat Alkohol über 70 Proz. keinen Vorteil gegenüber dem weniger konzentrierten und man kann zur Hautdesinfektion mit 60—70 Proz. auskommen.

7) Gelingt es, die tiefer in der Haut liegenden Bakterien mit Alkohol in Berührung zu bringen, so werden meist 5 Minuten zu ihrer Abtötung genügen.

Satta (28) prüfte in letzter Zeit die Wirkung der Alkoholdämpfe und kommt zu dem Resultat, daß die von 50 Proz. am wirksamsten als Desinficiens für Wohnräume, Eisenbahnwagen, Kleider etc. erscheinen.

Aus den hier angeführten Arbeiten geht hervor, daß über die Desinfektionskraft des Alkohols widersprechende Ansichten vorliegen, wenn auch der größere Teil der Autoren zur Meinung hinneigen, daß Alkohol in nicht absolutem Zustande wirksamer sei als in konzentriertem. Um die Frage nun einer Erledigung näher zu bringen, wurden eine Reihe von Versuchen angestellt, deren Resultate hier mitgeteilt werden sollen.

Vorausgeschickt seien einige allgemeine Bemerkungen über die angewendeten Methoden und die untersuchten Bakterien.

Die Beobachtungen lassen sich in 3 Gruppen einteilen:

1) Wirkung des Alkohols auf an Seidenfäden angetrocknete Bakterien.
 2) Wirkung des Alkohols auf an Seidenfäden haftende, feuchte Bakterien.

3) Wirkung des Alkohols auf Bakterienemulsionen.

Untersucht wurden: *B. coli*, *B. diphtheriae*, *Staphylococcus pyogenes aureus* und als Vertreter der sporenbildenden Arten *B. anthracis*.

Sowohl von *B. coli* wie *Staphylococcus pyogenes aureus* wurden 10 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur benutzt, deren Reinheit durch ein Deckglaspräparat und Kultur nachgewiesen war.

Diese Kultur wurde nun in je ein steriles Glasgefäß gegossen und die nötige Anzahl 3 cm langer, in trockener Hitze (150°) sterilisierter Seidenfäden durch 1 Stunde eingelegt. Sodann wurden die Fäden herausgenommen, in sterilen Petri-Schalen geordnet und der Bruttemperatur zum Trocknen durch 3 Stunden ausgesetzt. Aus dem Brutschrank entfernt, verblieben sie bis zu ihrer jeweiligen Verwendung vor Licht geschützt bei Zimmertemperatur stehen.

B. diphtheriae wurde auf Loefflerschem Serum gezüchtet, zwei 24-stündige Kulturen mit der Oese abgekratzt und in 3 ccm Bouillon emulgiert. Bei *B. anthracis* kamen 72-stündige, reich sporulierte Kulturen auf genannte Weise in Anwendung. In diese Emulsionen wurden sodann die Fäden eingelegt und weiter in der oben beschriebenen Art verfahren. Bei den Versuchen der Gruppe 3 wurde von der Bouillonkultur resp. der Emulsion je 1 Tropfen in sterile Röhrchen gebracht, darauf je 10 ccm Alkohol von gewünschter Konzentration gegossen und nun nach bestimmten, aus den Tabellen ersichtlichen Zeiträumen je 3 Oesen des Gemisches in Bouillonkultur übertragen.

Sämtliche Emulsionen wurden nach ihrer Herstellung durch dichte Leinwandfilter filtriert. Die Proben wurden nach 24 und 48 Stunden bei Bruttemperatur beobachtet, wobei ein erst nach 48 Stunden eingetretenes Wachstum als „verzögert“ (Zeichen ⊖ der Tabellen) bezeichnet wurde.

+ deutet Wachstum nach 24 Stunden, ⊕ kein Wachstum auch nach 48 Stunden an. Eine nicht angestellte Beobachtung ist durch — in den Tabellen kenntlich gemacht.

Jede angegangene Probe wurde durch ein mit Karbolfuchsin gefärbtes Deckglaspräparat geprüft.

Um sich Gewißheit über die Wachstumsfähigkeit der angetrockneten Bakterien zu verschaffen, wurden stets Kontrollröhrchen mit je einem nicht mit Alkohol behandelten Faden angelegt.

I. Gruppe (Tabelle I—IV).

Die in oben beschriebener Weise vorbereiteten Fäden werden in wohlverschlossene Röhrchen bei Zimmertemperatur mit den verschiedenen Alkoholkonzentrationen gebracht, nach den einzelnen Zeiträumen daraus entnommen, in sterilem Wasser abgespült und in Alkohol übertragen (s. Tab. I).

Gegen diesen Mikroorganismus wirkt also Alkohol noch in einer Konzentration von nur 10 Proz., wenn auch erst nach 24-stündiger Einwirkung, abtötend.

Staphylococcus pyogenes aureus zeigt sich gegen niedrigere Konzentrationen etwas widerstandsfähiger als *Coli* (s. Tab. II).

Trockene Anthrax-Sporen werden durch Alkohol keiner Konzentration abgetötet (s. Tab. III).

Tabelle I.
Bacterium coli (angetrocknet an Seidenfäden).

Prozent- gehalt des Alkohols	Dauer der Einwirkung								
	1 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	60 Min.	12 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.
98,8	+	+	+	+	+	+	+	+	+
80,0	+	+	+	+	+	+	—	+	—
70,0	+	+	+	+	+	+	—	+	—
60,0	+	+	+	+	+	+	—	—	—
50,0	+	+	+	+	+	+	—	—	—
40,0	+	+	+	+	+	+	—	—	—
30,0	+	+	+	+	+	+	+	—	—
20,0	+	+	+	+	+	+	+	+	—
10,0	+	+	+	+	+	+	—	⊖	—

Tabelle II.
Staphylococcus pyogenes aureus (angetrocknet an Seidenfäden).

Prozent- gehalt des Alkohols	Dauer der Einwirkung								
	1 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	60 Min.	12 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.
98,8	+	+	+	+	+	+	—	+	—
80,0	+	+	+	+	+	+	—	+	—
70,0	⊖	+	+	+	+	+	—	+	—
60,0	⊖	+	+	+	+	+	—	—	—
50,0	⊖	+	+	+	+	—	—	—	—
40,0	⊖	+	+	+	+	+	—	—	—
30,0	+	⊖	+	+	+	+	—	—	—
20,0	+	+	+	⊖	⊖	+	—	—	—

Tabelle III.
Bacillus anthracis (angetrocknet an Seidenfäden).

Prozent- gehalt des Alkohols	Dauer der Einwirkung								
	1 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	60 Min.	24 Stdn.	48 Stdn.	8 Tage
98,8	+	+	+	+	+	+	+	+	+
80,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
70,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40,0	+	+	+	+	+	+	+	—	—

Tabelle IV.
Bacillus diphtheriae (angetrocknet an Seidenfäden).

Prozent- gehalt des Alkohols	Dauer der Einwirkung								
	1 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	60 Min.	12 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.
98,8	+	+	+	+	+	+	—	—	—
80,0	+	+	+	+	+	+	—	—	—
70,0	+	+	⊖	+	+	+	—	—	—
60,0	+	+	+	+	+	+	—	—	—
50,0	+	+	+	+	+	+	—	—	—
40,0	+	+	+	+	+	+	—	—	—
30,0	+	+	+	+	+	+	—	—	—
20,0	+	+	+	+	+	+	—	—	—

Bei *B. diphtheriae* bedarf es zur Tötung eines Zeitminimums von 5 Minuten bei mittleren Alkoholverdünnungen (s. Tab. IV).

Man kann diesen Versuchsergebnissen entnehmen:

1) Alkohol ohne oder fast ohne Wasserzusatz übt auf trockene Bakterien weder eine entwicklungshemmende noch eine abtötende Wirkung aus.

2) Konzentrationen zwischen 40—60 Proz. erweisen sich schon nach einer Einwirkungsdauer von 1 Minute, ausgenommen *B. anthracis* und *B. diphtheriae*, als stark bakterizid. Höhere (70—80 Proz.) und niedrigere (20—30 Proz.) vermögen eine Abtötung resp. Entwicklungshemmung erst nach längerer Berührung hervorzurufen.

3) Gegen Sporen erweist sich Alkohol als vollkommen unwirksam.

II. Gruppe (Tabellen V—VIII).

Zur Methode sei noch hinzugefügt, daß vor der Alkoholbehandlung die trockenen Fäden durch 10 Minuten in sterilem Wasser lagen, um die Mikroorganismen feucht zu machen.

Tabelle V.
Bacterium coli (an feuchten Seidenfäden).

Prozent- gehalt des Alkohols	Dauer der Einwirkung								
	1 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	60 Min.	12 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.
98,8	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—	—
80,0	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—	—
70,0	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—	—
60,0	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—	—
50,0	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—	—
40,0	+	+	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—	—
30,0	+	+	+	+	+	+	—	—	—

Coli wird nur durch absoluten resp. wenig wasserhaltigen Alkohol (bis 80 Proz.) in kurzer Zeit getötet.

Tabelle VI.
Staphylococcus pyogenes aureus (an feuchten Seidenfäden).

Prozent- gehalt des Alkohols	Dauer der Einwirkung								
	1 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	60 Min.	12 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.
98,8	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—	—
80,0	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—	—
70,0	+	⊕	⊕	⊕	⊕	⊕	—	—	—
60,0	+	+	+	⊕	⊕	⊕	—	—	—
50,0	+	+	+	+	+	⊕	—	—	—
40,0	+	+	+	+	⊕	⊕	—	—	—
30,0	+	+	+	+	+	+	—	—	—

Auf *Staphylokokken* vermag Alkohol in absolutem Zustande nicht bakterizid zu wirken, sondern nur bei geringem Wasserzusatz und auch da nicht nach 1 Minute Einwirkungsdauer.

Anthrax-Sporen wachsen selbst nach 14 Tagen Alkoholbehandlung innerhalb 24 Stunden aus (s. Tab. VII).

Tabelle VII.
Bacillus anthracis (an feuchten Fäden).

Prozent- gehalt des Alkohols	Dauer der Einwirkung								
	1 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	60 Min.	24 Stdn.	48 Stdn.	14 Tage
98,8	+	+	+	+	+	+	+	+	+
80,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
70,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
60,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
50,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
40,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Tabelle VIII.
Bacillus diphtheriae (an feuchten Fäden).

Prozent- gehalt des Alkohols	Dauer der Einwirkung								
	1 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	60 Min.	12 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.
98,8	+	+	⊙	⊙	⊙	⊙	—	—	—
80,0	+	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	—	—	—
70,0	+	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	—	—	—
60,0	+	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	—	—	—
50,0	+	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	—	—	—
40,0	+	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	—	—	—
30,0	+	⊙	⊙	⊙	⊙	⊙	—	—	—
20,0	+	+	+	+	+	⊙	—	—	—

Bacillus diphtheriae zeigt dieselben Verhältnisse wie Staphylococcus.

Man kann aus dieser Versuchsreihe folgende Schlüsse ziehen:

1) Gegen die einzelnen Species von Mikroorganismen verhält sich der Alkohol bei dieser Versuchsmethode verschieden. Während Coli bei hohem Prozentgehalt sich nicht zu entwickeln vermag, ist das bei Staphylokokken und B. diphtheriae nicht der Fall, eine Entwicklungshemmung findet aber dennoch statt.

2) Bei Konzentrationen unter 70 Proz. von Alkohol macht sich bereits eine schwächere Wirkung bemerkbar.

3) Auch hier widerstehen Sporen selbst der Einwirkungsdauer von 14 Tagen.

III. Gruppe (Tabellen IX—XII).

Zur Methode ist hier nichts hinzuzufügen (s. Tab. IX).

Bei dieser Untersuchungsmethode zeigt sich, daß gegen dieses Bakterium in einem flüssigen Menstruum Alkohol auch bei kurzer Einwirkungsdauer tödend wirkt und zwar in gleichem Maße, ob hoch oder mittelhoch (98,8—50 Proz.) konzentriert. Selbst 40-proz. Alkohol vermag noch eine bedeutende Wachstumshemmung hervorzurufen, während mehr verdünnter sich als wirkungslos erweist.

Die Verhältnisse sind ähnlich wie bei B. coli mit dem Unterschiede, daß selbst noch 30-proz. Alkohol bei längerer Einwirkungsdauer eine, wenn auch mäßige, entwicklungshemmende Wirkung ausübt.

Anthrax-Sporen bleiben, wie man aus diesen Versuchen entnimmt, vollständig unbeeinflusst.

Tabelle IX.
Bacterium coli (Emulsion).

Prozent- gehalt des Alkohols	Dauer der Einwirkung								
	1 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	60 Min.	12 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.
98,8	0	0	0	0	0	0	—	—	—
80,0	0	0	0	0	0	0	—	—	—
70,0	0	0	0	0	0	0	—	—	—
60,0	0	0	0	0	0	0	—	—	—
50,0	0	0	0	0	0	0	—	—	—
40,0	⊙	0	0	0	0	0	—	—	—
30,0	+	+	+	+	+	+	—	—	—
20,0	+	+	+	+	+	+	—	—	—
10,0	+	+	+	+	+	+	—	—	—

Tabelle X.
Staphylococcus pyogenes aureus (Emulsion).

Prozent- gehalt des Alkohols	Dauer der Einwirkung								
	1 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	60 Min.	12 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.
98,8	0	0	0	0	0	0	—	—	—
80,0	0	0	0	0	0	0	—	—	—
70,0	0	0	0	0	0	0	—	—	—
60,0	0	0	0	0	0	0	—	—	—
50,0	0	0	0	0	0	0	—	—	—
40,0	+	0	0	0	0	0	—	—	—
30,0	+	+	+	⊙	⊙	⊙	—	—	—
20,0	+	+	+	+	+	+	—	—	—
10,0	+	+	+	+	+	+	—	—	—

Tabelle XI.
Bacillus anthracis (Emulsion).

Prozent- gehalt des Alkohols	Dauer der Einwirkung								
	1 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	60 Min.	12 Stdn.	24 Stdn.	14 Tage
98,8	+	+	+	+	+	+	—	—	+
80,0	+	+	+	+	+	+	—	—	+
70,0	+	+	+	+	+	+	—	—	+
60,0	+	+	+	+	+	+	—	—	+
50,0	+	+	+	+	+	+	—	—	+
40,0	+	+	+	+	+	+	—	—	+
30,0	+	+	+	+	+	+	—	—	+
20,0	+	+	+	+	+	+	—	—	+
10,0	+	+	+	+	+	+	—	—	+

B. diphtheriae zeigt sich auch gegen niedrige Konzentrationen bei entsprechend langer Einwirkungsdauer als wachstumsunfähig, wird jedoch von hohen und mittelhohen Konzentrationen schnell und sicher getötet (s. Tab. XII).

Folgende Schlüsse können aus dieser Versuchsgruppe gezogen werden:

1) In Flüssigkeit suspendierte Mikroorganismen der nicht sporogenen Arten werden von absolutem bis 50-proz. Alkohol schon nach 1 Minute langer Einwirkung getötet.

Tabelle XII.
Bacillus diphtheriae (Emulsion).

Prozent- gehalt des Alkohols	Dauer der Einwirkung								
	1 Min.	5 Min.	10 Min.	20 Min.	30 Min.	60 Min.	12 Stdn.	24 Stdn.	48 Stdn.
98,8	0	0	0	0	0	0	—	—	—
80,0	0	0	0	0	0	0	—	—	—
70,0	0	0	0	0	0	0	—	—	—
60,0	0	0	0	0	0	0	—	—	—
50,0	0	0	0	0	0	0	—	—	—
40,0	0	0	0	0	0	0	—	—	—
30,0	0	0	0	0	0	0	—	—	—
20,0	+	+	⊖	0	0	0	—	—	—
10,0	+	+	+	+	+	⊖	—	—	—

2) Auch niedrigere Konzentrationen (bis 30 Proz.) wirken bei längerem Zusammensein mit der Emulsion bakterizid.

3) Anthrax-Sporen widerstehen auch hier dem desinfizierenden Einflusse des Alkohols.

Wenn man die Versuchsergebnisse der einzelnen Autoren mit den hier vorliegenden vergleicht, so findet man, daß sie nahezu mit allen anderen darin übereinstimmen, daß absoluter Alkohol auf trockene Bakterien in keiner Weise desinfizierend wirkt, während wasserhaltiger einen bedeutenden bakteriziden Wert besitzt, ausgenommen gegen sporenhaltige Mikroorganismen, deren Entwicklungsfähigkeit gar nicht beeinträchtigt wird.

Daß feuchte Bakterien der desinfektorischen Kraft des Alkohols weniger gut Widerstand zu leisten vermögen, wurde von vielen Untersuchern ebenfalls erkannt.

Nun hat sich aber bei den vorliegenden Versuchen ergeben, daß es einen bedeutenden Unterschied bilde, ob die Mikroorganismen aus trockenem Zustande erst feucht gemacht wurden oder von Haus aus in flüssigen Medien suspendiert der Wirkung des Alkohols ausgesetzt wurden.

Grubers Ansicht, daß Wasser die Bakterienhülle durch Quellung für die nachfolgenden Desinfizientien passierbar mache, scheint durch diese Versuche bestätigt. Denn durch die Trocknung wird dem Zellleib das meiste Wasser entzogen. Schwebt er aber in einem wasserhaltigen Medium, so ist er stets mit Wasser gesättigt.

Wenn nun absoluter Alkohol auf ein vorher trockenes, dann wieder befeuchtetes Bakterium einwirkt, so läßt sich die verhältnismäßig geringe bakterizide Kraft nur dadurch erklären, daß die Zelle resp. die Zellmembran nicht wasserhaltig genug ist, um sich in der notwendigen Quellung zu befinden und den Alkohol auf den Zellinhalt einwirken zu lassen. Kommt sie aber mit wasserhaltigem Weingeist in Berührung, so vermag sie aus dem darin enthaltenen Wasser ihr eigenes Minus zu ergänzen.

Befindet sich ein Bakterium in einem flüssigen wasserhaltigen Medium suspendiert, so ist die Membran bereits gequollen und nach Gruber die Bedingung zur Einwirkung des Alkohols erfüllt.

Denn absoluter Alkohol wirkt auf eine Bakterienemulsion in kürzester Zeit bakterizid, während dies bei Bakterien an angefeuchteten Fäden nicht der Fall ist.

Man könnte noch die Frage aufwerfen, warum denn dann auch niedrige Konzentrationen Bakterien abzutöten vermögen.

Das sei dahin beantwortet, daß auch in niedrigen Konzentrationen quantitativ eine hinreichende Menge von bakteriziden Substanzen vorhanden sein kann, welche eben noch zur Tötung der angegriffenen Zellen genügt (Minimaltötungsdosis).

Denn daß der Alkohol ein Bakteriengift ist und nicht, wie einzelne Autoren behaupten, durch seine wasserentziehende Kraft wirke, ist wohl durch den Umstand hinlänglich bewiesen, daß zu seiner Wirkung Wasser notwendig ist und er ohne Wasser keinen Einfluß ausübt. Daß der absolute Alkohol in Emulsionen eine prompte bakterizide Wirkung entfaltet, muß nicht notgedrungen auf sein Wasserentziehungsvermögen zurückgeführt werden, da in diesem Falle das relativ größte Giftquantum zur Wirkung gelangt.

Daß Anthrax-Sporen, die doch auch wasserhaltig sind, durch Alkohol in keiner Weise geschädigt werden, ist weder ein Beweis für die Protoplasmagiftigkeit noch für das Wasserentziehungsvermögen des Alkohols. Hier liegen die Verhältnisse wohl so, daß die jede Spore einhüllende Membran sowohl der Außenwirkung (Wasserentziehung) als der Innenwirkung (Protoplasmagiftigkeit) des Alkohols Widerstand leistet.

In welcher Weise nun Alkohol auf das Protoplasma giftig wirkt, dürfte wohl erst nach genauer Kenntnis der chemischen Zusammensetzung einer Bakterienzelle ermittelt werden können.

Ueber die praktische Bedeutung des Alkohols als Desinficiens wie über dessen Anwendung zur Sterilisation der Haut seien noch einige Worte auf Grund der bakteriologischen Versuchsergebnisse erwähnt.

1) Die keimhaltige Haut vermag durch bloße Behandlung mit absolutem nicht, mit verdünntem Alkohol kaum steril gemacht zu werden.

2) Bei vorheriger mechanischer Reinigung mit Wasser, Seife und Bürste werden die an der Haut haftenden oberflächlichen Keime weggeschwemmt, die tiefer liegenden „befeuchtet“. Bei dieser Vorbereitung nehmen die Keime wohl so viel Wasser auf, daß ihre Hülle genügend gequollen ist, um dem nun nachfolgenden Alkohol, sei er nun absolut oder geringgradig verdünnt (— 80 Proz.), vollen Eingang zu gewähren.

3) Eine nun folgende Waschung in einem stark wirkenden Desinficiens (Sublimat) dürfte nicht notwendig, aber jedenfalls sehr zweckmäßig sein.

Kurz gesagt, muß der Alkohol nach dem Ergebnisse dieser Versuche als ein echtes Bakteriengift angesehen werden, welches allerdings in der bisher angewendeten Form nur gegen sporenlose Mikroorganismen wirksam ist.

Eine Besprechung der Einwirkung des Alkohols auf Reinkulturen von Tuberkelbacillen wie auf tuberkelbacillenhaltiges Sputum soll der Inhalt einer weiteren Mitteilung sein.

Schließlich sei es mir gestattet, Herrn Oberstabsarzt Dr. L. Kamen für die Anregung und Unterstützung bei dieser Arbeit meinen ergebensten Dank auszusprechen.

Wien, 8. Mai 1904.

Literatur.

- 1) Buchholz, Antiseptica und Bakterien. (Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. Bd. IV. 1875.)
- 2) Koch, Ueber Desinfektion. (Mitteil. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. I. 1881.)

- 3) Fürbringer, Untersuchungen und Vorschriften über Desinfektion der Hände. Wiesbaden 1888.
- 4) Reinike, Bakteriologische Untersuchungen über die Desinfektion der Hände. (Centralbl. f. Gynäkol. 1894. No. 47. Arch. f. Gynäkol. Bd. II. 1895.)
- 5) Schäffer, Therapeutische Monatsh. 1895. Juli.
- 6) Ahlfeld u. Vahle, Die Wirkung des Alkohols bei der geburtshilflichen Desinfektion. (Dtsche med. Wochenschr. 1896. No. 6.)
- 7) Green, Charles Leedham, Versuche über die Spiritusdesinfektion der Hände. (Dtsche med. Wochenschr. 1896. No. 23.)
- 8) Ahlfeld, Einige Bemerkungen zu der vorstehenden Arbeit Dr. Leedham Greens. (Dtsche med. Wochenschr. 1896. No. 23.)
- 9) Fürbringer u. Freyhan, Neue Untersuchungen über Desinfektion der Hände. (Dtsche med. Wochenschr. 1897. No. 6.)
- 10) Schmitt, Adolf, Chirurgische Mitteilungen aus der Praxis. (Münch. med. Wochenschr. 1896. Juni.)
- 11) Poten, Die chirurgische Asepsis der Hände. Berlin 1897.
- 12) Buchner, Fuchs u. Megele, Wirkung von Methyl-, Aethyl- und Propylalkohol auf den arteriellen Blutstrom bei äußerer Anwendung. (Arch. f. Hyg. Bd. XL.)
- 13) Epstein, Zur Frage der Alkoholdesinfektion. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIV. 1897.)
- 14) Saul, Desinfektionsenergie siedender Alkohole. (Arch. f. klin. Chir. Bd. LVI. 1898.)
- 15) Minervini, Ueber die bakterizide Wirkung des Alkohols. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIX. 1898.)
- 16) Senger, Experimentelle und klinische Untersuchungen zur Erzielung der Hautsterilität. (Arch. f. klin. Chir. Bd. LIX. 1899.)
- 17) Winkler, Beitrag zur Frage der Alkoholdesinfektion. [Inaug.-Dissert.] Marburg 1899.
- 18) Ahlfeld, Der Alkohol als Desinficiens. (Monatsschr. f. Geburtsh. u. Gynäkol. Bd. X. 1899.)
- 19) Weigl, Untersuchungen über die bakterizide Wirkung des Aethylalkohols. (Arch. f. Hyg. Bd. XLIV.)
- 20) Braatz, Münch. med. Wochenschr. 1900. No. 29; No. 49.
- 21) Bäterelli, Sul potere battericida dell'alcool etilico. (Policlinico. 1900. 1. October.)
- 22) Salzwedel u. Elsner, Ueber die Wichtigkeit des Alkohols als Desinfektionsmittel. (Berl. klin. Wochenschr. 1900. No. 23.)
- 23) Barsikow, Ueber die bakterientötende Wirkung des Alkohols und des Spiritus sapon. (Pharmazeut. Ztg. 1901. No. 5.)
- 24) Frank, Ueber Desinfektionswirkung des Alkohols, besonders der Alkoholdämpfe. (Münch. med. Wochenschr. 1901. No. 4.)
- 25) v. Brunn, Centralbl. f. Bakt. etc. 1900. No. 10/11.
- 26) Wirgin, Zur Wirkung des Aethylalkohols auf Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. 1902.)
- 27) Harrington and Walker, The germicidal action of alchool. (Boston med. and surg. Journal. 1903. May.)
- 28) Satta, Ueber den Desinfektionswert des Alkoholdampfes. (Untersuchungen, ausgeführt im hygienischen Institute zu Cagliari. 1904.)

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Hämolyse.

[Aus dem Laboratorium der medizinischen Klinik zu Würzburg.
Direktor: Geheimrat Professor Dr. von Leube.]

Von Dr. med. H. Lüdke.

I. Untersuchungen über das erste Auftreten der Hämolyse und über Auto-Antikomplemente.

Die Schicksale des Ochsenblutes im Kreislauf des Kaninchens sind von Sachs (1) einer genauen Prüfung unterzogen. Sachs fand, daß das erste Auftreten von freiem Ambozeptor im Serum des mit Ochsenblutkörperchen behandelten Kaninchens in engem Zusammenhang mit

dem Verschwinden des injizierten Ochsenbluts steht. Nach $2\frac{1}{2}$ —3 Tagen waren bei seinen Versuchen schon deutlich erkennbare Mengen von Ambozeptor gebildet. Vor ihm konnte Bulloch (2) den Nachweis liefern, daß bei intravenösen Injektionen das Kaninchenserum nach einer Inkubationszeit von 3 Tagen deutlich hämolytisch wirkte. Bei subkutanen Injektionen tritt nach Bulloch die Hämolyse erst nach ca. 7 Tagen auf. Das wesentliche Erfordernis für das Auftreten einer vollständigen Hämolyse des Ochsenbluts ist nach der Arbeit von Sachs das Vorhandensein von freiem Ambozeptor nach dem Verschwinden sämtlichen injizierten Ochsenblutes. Allerdings verliere, wie dieser Autor anführt, der Begriff der Inkubationszeit an Bestimmtheit, indem die erste Ambozeptorensekretion sicher schon vor dem Nachweis im Serum erfolge, nur würden diese Ambozeptoren, kaum in die Blutbahn gelangt, zur Hämolyse des Ochsenblutes verbraucht und entgingen so dem Nachweis.

Die Beobachtungen von Bulloch und Sachs bestätigen meine an zahlreichen Kaninchen ausgeführten Untersuchungen, die vor dem Erscheinen der interessanten Arbeit von Sachs begonnen wurden und den Zweck hatten zu prüfen, ob und inwieweit das zeitliche Auftreten der Hämolyse von der Individualität des Versuchstiers und der zur Injektion verwendeten Menge Blut abhängt. Bei 12 Kaninchen, denen im Durchschnitt stets 8—10 ccm (Minimum 6 ccm, Maximum 20 ccm) Ochsenblut injiziert waren, traten die neugebildeten, für Ochsenblut spezifischen Ambozeptoren an den im folgenden angeführten Tagen nach dem Injektionstermin auf:

Kaninchen I. 10 ccm Ochsenblut intraperitoneal injiziert am 23. Sept. 1903. Vollständige Hämolyse des Ochsenbluts trat am 27. Sept. ein, also nach 4 Tagen.

Kaninchen II. 20 ccm Ochsenblut subkutan injiziert am 15. Okt. 1903. Vollständige Hämolyse des Ochsenbluts trat am 23. Okt. ein, also nach 8 Tagen.

Kaninchen III. 10 ccm Ochsenblut subkutan injiziert am 15. Dez. 1903. Vollständige Hämolyse des Ochsenbluts trat am 23. Dez. ein, also nach 8 Tagen.

Kaninchen IV. 7 ccm Ochsenblut subkutan injiziert am 5. Jan. 1904. Vollständige Lösung des Ochsenblutes trat am 10. Jan. ein, also nach 5 Tagen.

Kaninchen V. 10 ccm Ochsenblut subkutan injiziert am 16. Jan. 1904. Vollständige Hämolyse des Ochsenbluts am 24. Jan. auf, also nach 8 Tagen.

Kaninchen VI. 20 ccm Ochsenblut subkutan injiziert am 2. März 1904. Vollständige Lösung des Ochsenbluts trat am 7. März auf, also nach 5 Tagen.

Kaninchen VII. 10 ccm Ochsenblut subkutan injiziert am 2. März 1904. Vollständige Lösung des Ochsenbluts trat am 7. März auf, also nach 5 Tagen.

Kaninchen VIII. 5 ccm Ochsenblut subkutan injiziert am 9. März 1904. Vollständige Lösung des Ochsenbluts trat am 21. März auf, also nach 12 Tagen.

Kaninchen IX. 10 ccm Ochsenblut subkutan injiziert am 13. April 1904. Vollständige Lösung des Ochsenbluts trat am 25. April auf, nach 12 Tagen.

Kaninchen X. 10 ccm Ochsenblut subkutan injiziert am 25. April 1904. Vollständige Hämolyse des Ochsenbluts trat am 3. Mai auf, also nach 8 Tagen.

Kaninchen XI. 6 ccm Ochsenblut subkutan injiziert am 26. April 1904. Vollständige Hämolyse des Ochsenbluts trat am 4. Mai auf, nach 8 Tagen.

Kaninchen XII. 8 ccm Ochsenblut intraperitoneal injiziert am 10. Mai 1904. Vollständige Lösung des Ochsenbluts trat am 16. Mai auf, nach 6 Tagen.

Im allgemeinen konnte ich also bei diesen 12 Kaninchen konstatieren, daß in 7 Fällen vom 5.—8. Tag, nur in 3 Fällen vom 10.—12. Tage vollständige Hämolyse auftrat; im Durchschnitt also hat man bei subkutanen Injektionen am 8. Tage auf eine völlige Lösung der Ochsenerythrocyten zu rechnen.

Bei intraperitonealen Injektionen, von denen zwei angeführt wurden, war das Auftreten vollständiger Hämolyse ebenfalls etwas später (um 1, resp. 2 Tage) als Bulloch angibt, zu konstatieren.

Individuelle Verschiedenheiten in der vollständigen Ausbildung der hämolytischen Ambozeptoren waren also hier, wie auch Sachs fand, in gewissen engeren Grenzen zu erkennen, während größere oder kleinere Mengen von injiziertem Ochsenblut keinen bemerkbaren Einfluß auf das frühere oder spätere Auftreten oder die Wirkungsintensität hatten.

Beginnende Hämolyse, d. h. eine noch erkennbare Aufklärung der wolkigtrüben Ochsenblutaufschwemmung tritt natürlich schon in früheren Stadien der Ausbildung der Hämolyse im Blutserum des Kaninchens ein und kann bisweilen schon einige Tage vor dem vollständigen Lackfarbenwerden beobachtet werden. Bei einigen Kaninchen gelang es, in relativ kurzen Untersuchungsintervallen — indem Vormittags stets zu einer bestimmten Zeit und ebenso am späten Nachmittag dem Kaninchen Blut entzogen wurde — eine deutliche Steigerung der hämolytischen Kraft von eben merklicher Aufhellung der Ochsenblutaufschwemmung bis zur vollkommenen, später auftretenden Hämolyse nachzuweisen. Das früheste Datum des Nachweises der Bildung hämolytischer Ambozeptoren war bei den subkutanen Injektionen der 2. Tag nach der Injektion, das späteste der 12. Tag; jedenfalls ergab sich aus diesen Untersuchungen, die in kürzeren, zeitlichen Zwischenräumen ausgeführt wurden, daß in den meisten Fällen die beginnende Ambozeptorensekretion sich in kürzester Frist rasch steigert, bis, gewöhnlich am nächst- oder übernächstfolgenden Tag nach dem bloßen Beginn der Hämolyse, vollständige Lösung eintritt. Von diesem Moment ab datiert die ungehemmte hämolytische Fähigkeit des Serums; feinere Schwankungen, bestehend in zeitig schnellerer oder langsamerer Lösung der Ochsenerythrocyten, konnten in der folgenden Zeit bisweilen noch konstatiert werden, ohne an dem Resultat einer völligen Hämolyse etwas Wesentliches zu ändern.

Nur bei einigen Kaninchen war an bestimmten Perioden ein Schwächerwerden oder gar Ausbleiben der Lösung zu konstatieren, worüber im folgenden berichtet werden soll. Dieser Ausfall in der hämolytischen Reaktion des Kaninchenserums trat bei meinen Beobachtungen gewöhnlich am 10. Tage nach erfolgter Injektion ein. Ich füge hier die Versuchsreihen, in denen dies Phänomen zum deutlicheren Ausdruck kam, mit Angabe der einzelnen Daten an:

- Kaninchen I. Untersuchung am 25. Okt. 1903.
 3 Tropfen Serumzusatz: nach $1\frac{1}{4}$ Std. vollst. Lösung
 6 " " " " " " "
 " Untersuchung am 26. Okt.
 3 Tropfen Serumzusatz: nach 2 Std. keine Lösung
 6 " " " " " " "
 " Untersuchung am 27. Okt.
 3 Tropfen Serumzusatz: nach 1 Std. vollst. Lösung
 6 " " " " " " "
 Am 11. Tage nach der Injektion (am 15. Okt. Injektion) blieb die Lösung aus.
- Kaninchen II. Untersuchung am 23. Dez. 1903.
 3 Tropfen Serumzusatz: nach 2 Std. fast vollst. Lösung
 6 " " " " " " "
 " Untersuchung am 25. Dez.
 3 Tropfen Serumzusatz: nach 2 Std. keine Lösung
 6 " " " " " " "
 " Untersuchung am 27. Dez.
 3 Tropfen Serumzusatz: nach 2 Std. fast vollst. Lösung
 6 " " " " " " "
 Am 10. Tag nach der Injektion (am 15. Dez. Injektion) war eine Abschwächung der hämolytischen Kraft zu bemerken.

Kaninchen III. Untersuchung am 10. Jan. 1904.

3 Tropfen Serumzusatz:	nach 1 Std.	vollst. Lösung
6 "	" 1 "	" "
" Untersuchung am 12. Jan.	" "	" "
3 Tropfen Serumzusatz:	nach 2 Std.	keine Lösung
6 "	" 2 "	" "
" Untersuchung am 14. Jan.	" "	" "
3 Tropfen Serumzusatz:	nach 2 Std.	keine Lösung
6 "	" 2 "	" "
" Untersuchung am 18. Jan.	" "	" "
3 Tropfen Serumzusatz:	nach 2 Std.	Spur von Lösung
6 "	" 2 "	fast vollst. "
" Untersuchung am 20. Jan.	" "	" "
3 Tropfen Serumzusatz:	nach 1 Std.	vollst. Lösung
6 "	" 1/2 "	" "

Dies Kaninchen zeigte allerdings bereits vor der Injektion des Ochsenblutes (am 5. Jan. Injektion) ein deutliches Lösungsvermögen. Am 7. Jan., also 2 Tage nach der Injektion, war jedoch diese dem normalen Serum eigene hämolytische Fähigkeit verschwunden, um am 10. Jan. nach einstündiger Einwirkungszeit auf das Ochsenblut wieder zu erscheinen. Die schon im Blute vorhandenen und nachweisbaren Ambozeptoren waren demnach in den ersten Tagen nach der Injektion von den Ochsenerythrocyten abgefangen und aufgebraucht, so daß am 7. Tag das Serum frei von ihnen war. Die nun aufgelösten und resorbierten Blutelemente ließen darauf in schnellerer Folge unter den hier gegebenen günstigeren Verhältnissen ihre Reaktionsprodukte, die künstlich erzeugten hämolytischen Ambozeptoren am 5. Tag im Blutkreislauf erscheinen. Als eine Art von Gegenreaktion trat dann am 7. Tag nach erfolgter Injektion eine völlige Hemmung der kurz zuvor deutlich nachweisbaren hämolytischen Kraft ein: Die Ochsenerythrocyten blieben von dem Kaninchenserum gänzlich unbeeinflusst. Sogar am 9. Tag noch war diese Aufhebung der Hämolyse vorhanden, um dann allmählich wieder ins Gegenteil umzukehren.

Bei Kaninchen IV kein entsprechender Befund.

Kaninchen V. Untersuchung am 10. März 1904, 7 Uhr Nachm.

5 Tropfen Serumzusatz:	nach 1/2 Std.	vollst. Lösung.
" Untersuchung am 11. März, 8 Uhr Vorm.	" "	" "
3 Tropfen Serumzusatz:	nach 1 1/2 Std.	vollst. Lösung
6 "	" 1 1/2 "	" "
" Untersuchung am 11. März, 7 Uhr Nachm.	" "	" "
5 Tropfen Serumzusatz:	nach 1 1/2 Std.	vollst. Lösung.
" Untersuchung am 12. März, 8 Uhr Vorm.	" "	" "
3 Tropfen Serumzusatz:	nach 1/2 Std.	vollst. Lösung
6 "	" 1/2 "	" "

Am 9. Tag nach der Injektion (am 2. März) trat hier die Lösung später ein.

Kaninchen VI ergab keinen entsprechenden Befund.

Kaninchen VII. Untersuchung am 22. März 1904.

3 Tropfen Serumzusatz:	nach 1/2 Std.	vollst. Lösung
6 "	" 1/2 "	" "
" Untersuchung am 23. März.	" "	" "
3 Tropfen Serumzusatz:	nach 2 Std.	sehr starke Lösung
6 "	" 2 "	" "
" Untersuchung am 24. März.	" "	" "
3 Tropfen Serumzusatz:	nach 1/4 Std.	vollst. Lösung
6 "	" 1/4 "	" "

Am 14. Tag nach der Injektion (am 9. März Injektion) trat also eine Hemmung der Lösung ein.

Kaninchen IX. Untersuchung am 27. April 1904.

3 Tropfen Serumzusatz:	nach 1 1/2 Std.	vollst. Lösung
6 "	" 1 1/2 "	" "

Untersuchung am 28. April.

3 Tropfen Serumzusatz: nach 2 Std. starke Lösung

6 " " " 2 " sehr starke Lösung

Nach 10stündigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur war ebenfalls noch nicht vollständige Lösung eingetreten.

Untersuchung am 29. April ergab dasselbe Resultat wie am 28. April.

Untersuchung am 30. April.

3 Tropfen Serumzusatz: nach $\frac{1}{2}$ Std. vollst. Lösung

6 " " " $\frac{1}{4}$ " " " "

Am 15. und 16. Tag nach der "Injektion" (am "13. April") war hier eine Abschwächung in der hämolytischen Kraft eingetreten.

Kaninchen X. Untersuchung am 3. Mai 1904.

3 Tropfen Serumzusatz: nach 2 Std. vollst. Lösung

6 " " " 2 " " " "

"Untersuchung am 4. Mai.

3 Tropfen Serumzusatz: nach 2 Std. beginnende Lösung

6 " " " 2 " " " "

Nach 10stündigem Verweilen bei Zimmertemperatur trat fast vollständige Lösung ein.

Untersuchung am 5. Mai.

3 Tropfen Serumzusatz: nach 1 Std. vollst. Lösung

6 " " " 1 " " " "

Am 9. Tag nach der "Injektion" (am "25. April") war hier eine Abschwächung in der hämolytischen Wirkung eingetreten.

Kaninchen XI. Untersuchung am 4. Mai 1904.

3 Tropfen Serumzusatz: nach 2 Std. sehr starke Lösung

6 " " " 2 " " " "

Nach 10stündigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur trat vollständige Lösung ein.

Untersuchung am 5. Mai.

3 Tropfen Serumzusatz: nach 2 Std. keine Lösung

6 " " " 2 " " " "

Nach ca. 16stündigem Verweilen bei Zimmertemperatur trat unvollständige Lösung ein.

Untersuchung am 6. Mai.

3 Tropfen Serumzusatz: nach $\frac{1}{4}$ Std. vollst. Lösung

6 " " " $\frac{1}{4}$ " " " "

Am 9. Tag nach der "Injektion" (am 26. April) trat hier keine Lösung ein.

Kaninchen XII bot keinen entsprechenden Befund.

Kurz zusammengefaßt erhalten wir in vorstehenden Tabellen dieses Ergebnis: Von 12 mit Ochsenblut behandelten Kaninchen war in 8 Fällen zu einer bestimmten Zeit eine Abschwächung, resp. vollständige Aufhebung der hämolytischen Fähigkeit des Kaninchenserums zu konstatieren. Völlige Hemmung trat in 3 Fällen ein; in den übrigen war die Abschwächung des hämolytischen Vermögens des Serums in der zeitlich verzögerten und unvollständigen Auslösung der Reaktion deutlich erkennbar. Durchschnittlich etwa am 9. oder 10. Tag konnte diese Hemmung der Hämolyse erwartet werden. Individuelle Differenzen innerhalb enger Grenzen waren auch hier vorhanden.

Bei der Beobachtung der Entwicklung spezifischer Hämolsine im Blut des Kaninchens mag bei den relativ langen Intervallen der Serumuntersuchungen des öfteren ein solches beim ersten Anschein verwirrendes Vorkommnis unbeachtet geblieben sein, zumal sich in kürzester Frist — meist nach 24 Stunden — wieder die alte intensive Lösungskraft des Serums einstellt. Zwei Mitteilungen über diesen Gegenstand fand ich in der mir zugängigen Literatur noch verzeichnet. Eine etwas ausführlichere Bemerkung hierüber stammt von Ehrlich und Morgenroth (3) selbst. Bei einem Kaninchen, das mit Ochsenblut (Blutkörperchen und Serum) behandelt war, beobachteten diese Autoren am 10. Tage ein völliges Ver-

schwinden der lösenden Kraft des für Ochsenerythrocyten spezifischen Serums. Ferner erwähnt v. Dungern (4) ganz kurz, auch dieselbe Beobachtung bei einigen mit Rinderblut behandelten Kaninchen gemacht zu haben. Dieser Befund, der nur in einzelnen Fällen zu konstatieren ist und der in dieser Prägung des Kontrastes, daß Tags vorher noch völlige Lösungsfähigkeit des Serums vorhanden ist, um Tags darauf gänzlichliches Ausbleiben jeder Hämolyse zu zeigen, seltener zu Gesicht kommt, veranlaßte mich zu einer erneuten, genauen Prüfung der vorliegenden Verhältnisse, wie eine solche schon von Ehrlich und Morgenroth in ihrem kurzgefaßten Bericht über diese Erscheinung vorgenommen wurde. Ich wählte hierzu ein Kaninchen (No. XI), welches diesen Kontrast deutlicher ausgesprochen zeigte. Demselben waren 6 ccm Ochsenblut (Blut und Serum), frisch nach der Defibrinierung gewonnen, subkutan injiziert worden. Am 9. Tage nach der Injektion des Ochsenblutes blieb hier nach 2stündigem Verweilen des Blut-Serumgemisches im Thermostaten die Lösung aus und nach weiterem Stehenlassen bei Zimmertemperatur ca. 16 Stunden lang, trat nur unvollständige Hämolyse ein, nachdem vorher sehr starke, resp. vollständige Lösung des Ochsenblutes sich vorgefunden hatte. Nachdem dieser merkwürdige Befund festgelegt war, wurde dem Tier an demselben Tage noch, da, wie in anderen Fällen beobachtet, diese Erscheinung gewöhnlich nur ca. 24 Stunden in Kraft ist, eine große Blutmenge zur weiteren Verarbeitung ihres Serums entzogen.

Die erste Ueberlegung und Versuchsreihe war die, das Vorhandensein von Ambozeptor in diesem Kaninchenserum festzustellen.

Zu je 1 ccm einer 4-proz. Ochsenblutaufschwemmung wurden, auf die einzelnen Röhrchen verteilt, 1, 2, 4 und 6 Tropfen des aktiven Kaninchenserums hinzugefügt; diese Blut-Serumgemische kamen für 1 Std. in den Eisschrank (3° C). Darauf wurde zentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit abgegossen und die zurückbleibenden Blutscheiben mit 0,875-proz. Kochsalzlösung sorgfältig zweimal gewaschen. Nach Abgießen der Waschflüssigkeiten wurden die Röhrchen wieder mit 1 ccm Kochsalzwasser nachgefüllt und zu jeder dieser Blutkörperchen-Aufschwemmungen frisch gewonnenes Meerschweinchenserum als Komplement zugesetzt. In den Brutschrank (35° C) gestellt, ergab sich dann folgendes Bild:

Aktives Kaninchenserum	Meerschweinchen- serum	Vollständige Lösung in
1 Tropfen	3 Tropfen	15 Minuten
2 "	3 "	10 "
4 "	3 "	6 "
6 "	3 "	3 "

Der Eintritt der Hämolyse erfolgte also hiernach in der Kürze der Zeit, in der sie sich sonst bei gut wirksamem Serum einzustellen pflegt. Ambozeptor war, wie auch Ehrlich und Morgenroth in ihrem Fall erwähnen, genügend vorhanden und in normaler Weise an die Ochsenerythrocyten verankert worden, so daß hinzugefügtes Komplement die Hämolyse herbeiführen konnte.

Die entfernter liegende Möglichkeit, daß es sich bei dem verwendeten Ochsenblut um einen eventuell vorhandenen individuellen Rezeptormangel gehandelt hätte, war damit auch außer Betracht zu ziehen; denn der Ambozeptor war ja, wie beschrieben, von den Ochsenerythrocyten verankert worden.

Demnach konnte die Ursache für das Ausbleiben der Hämolyse nur in der Unwirksamkeit der Komplemente zu suchen sein. Im allgemeinen führt nun, wie v. Dungern nachwies, die Immunisierung mit roten Blutscheiben keine wesentliche Aenderung im Komplementgehalt des immunisierten Tieres herbei; der Komplementgehalt bleibt konstant. Dem gegenüber konnte Sachs gewisse Schwankungen des Komplementgehalts im Beginn der Bildung von Hämolsinen erkennen, die natürlich in den großen Intervallen der Komplementbestimmungen bei der schnellen Regenerationsfähigkeit der Komplemente der Beobachtung leicht entgehen könnten. Diese Schwankungen, bestehend in einem Sinken des Komplementgehalts, einer Komplementsteigerung und Rückkehr zur Norm, finden sich jedoch nur in den allerersten Tagen nach der Injektion des artfremden Bluts nach Sachs vor, darauf (am 4.—5. Tag nach der Injektion) bleibt trotz der starken Ambozeptorensekretion der Komplementgehalt des Serums dauernd konstant.

Auch der vorliegende Fall kann keine Ausnahme von dieser Regel ausmachen. Hier mußte, der Zeit entsprechend, der Komplementgehalt bereits eine Konstante sein. Diese Abweichung muß der Wirksamkeit des mitinjizierten Serums (es wurde das frisch defibrinierte Blut des Ochsen den Kaninchen injiziert) zugeschrieben werden. Ehrlich und Morgenroth stellten fest, daß bei der Injektion von Kaninchen mit Ziegenserum ein Verlust gewisser Komplemente des Kaninchenserums eintritt. Bedingung hierfür ist das Auftreten von Antikomplementen, welche gegen die eigenen Komplemente gerichtet sind und demgemäß als Autoantikomplemente bezeichnet werden. Die Wirkungsweise dieser Antikomplemente geht dahin, die eigenen Komplemente abzulenken, indem die Antikomplemente, wie Ehrlich und Morgenroth nachweisen konnten, mit den haptophoren Elementen der Komplemente in Verbindung treten. So konnte in den Versuchen, in welchen Ziegenserum einerseits und Ochsenblut und -serum andererseits in den Kaninchenorganismus injiziert war, der neugebildete Ambozeptor vollkommen latent bleiben. — In unserem Fall war noch der Versuch angebracht, nach Inaktivierung des Kaninchenserums die Wirkung der Hinzufügung neuen Komplements (Meerschweinchen-serum) zu prüfen. Nach $\frac{1}{2}$ stündigem Erwärmen im Wasserbad bei 56° C waren Immunkörper und Antikomplement frei.

Kaninchenserum inaktiv	Meerschweinchen- serum	Lösungsverhältnisse
3 Tropfen	2 Tropfen	Nach 2 Std. unvollst. Lösung
3 "	4 "	In $\frac{1}{3}$ " vollst. "
6 "	2 "	Nach 2 " unvollst. "
6 "	5 "	In 40 Min. vollst. "

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Die Gewinnung von Antistaphylokokkenserum.

Von Dr. **Pröscher.**

Mit 2 Kurven.

In zwei vorhergehenden Mitteilungen¹⁾ habe ich über ein wirksames Antistaphylokokkenserum berichtet, das Kaninchen prophylaktisch gegen lebende pathogene Staphylokokken schützt und dieselben in hoher Verdünnung agglutiniert. Ueber den Modus der Immunisierung habe ich damals nicht berichtet und soll derselbe im folgenden genauer beschrieben werden.

Um ein wirksames Antistaphylokokkenserum zu gewinnen, muß man mit lebenden virulenten Staphylokokken intravenös immunisieren.

Durch eine große Reihe von Versuchen habe ich mich überzeugt, daß sowohl die subkutane wie intraperitoneale Injektion lebender Staphylokokken sowie steriler Filtrate von Bouillonkulturen, die die löslichen Produkte der Staphylokokken enthalten, kein wirksames Serum liefert. Man erhält wohl einen spezifischen Antikörper, der gegen das Staphylo-toxin bzw. gegen das Staphylolysin und Leukocidin einen wirksamen Schutz entfaltet, wie dies auch Neisser und Wechsberg gelungen, der aber Kaninchen gegen die Infektion mit lebenden Staphylokokken nicht schützt. Neben diesem Antitoxin enthält das Serum von Tieren, die vorzugsweise mit den Leibern von Staphylokokken immunisiert sind, ein Agglutinin, aber in sehr geringer Menge. Es zeigt dies, daß ein geringer Teil der Staphylokokkenleiber sich aufgelöst hat und in das Filtrat übergegangen ist. Wir dürfen diesen Vorgang mit der Autolyse der Bakterienleiber in Zusammenhang bringen, wie diese Erscheinung in neuerer Zeit genannt wird.

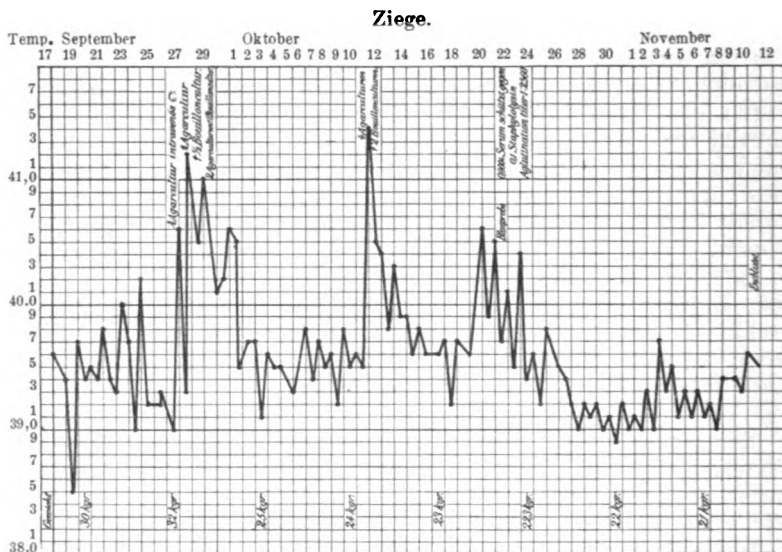
Wir sehen also, daß einerseits bei der subkutanen wie intraperitonealen Immunisierung mit abgetöteten oder lebenden Staphylokokken und andererseits mit sterilen Bouillonkulturen kein wirksames Serum erhalten wird, das Tiere gegen die Infektion mit lebenden Staphylokokken schützt. Es scheint, daß die Resorption der Staphylokokkento-xine im subkutanen Bindegewebe oder auch vom Peritoneum aus äußerst langsam vor sich geht und ein Teil derselben durch unbekannte Einflüsse derartig modifiziert, daß die reichliche Bildung von schützenden Antikörper verhindert wird. Auch ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß der größte Teil der Staphylokokkentoxine am Orte der Injektion fest verankert wird und nur ein kleiner Teil in den Gesamtorganismus übergeht, so daß die Antikörperproduktion nur von einer lokalen Stelle ausgeht. Um eine ausgiebige Bildung von Antikörpern zu erzielen, erscheint es plausibel, den Gesamtorganismus möglichst gleichmäßig mit Toxin zu überschwemmen, um sämtliche Organe zur Antitoxinproduktion anzuregen. Dieses Ziel ist nur auf dem Wege der intravenösen Injektion zu erreichen.

Für die Gewinnung von Antistaphylokokkenserum eignen sich am besten Ziegen, Schafe und Pferde. Mit kleineren Tieren, wie z. B. mit Kaninchen, zu arbeiten, ist nicht ratsam, da trotz der schonendsten

1) *Dtsche med. Wochenschr.* 1903. No. 11 und *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I.* Bd. XXXIV. 1903.

Immunisierung die größte Mehrzahl der Tiere sehr bald an Sekundärinfektionen zu Grunde gehen. Dieselben erschweren das experimentelle Arbeiten mit Staphylokokken außerordentlich und rafften oft den wertvollsten Teil der Versuchstiere weg.

Im folgenden gebe ich zuerst das Immunisierungsschema einer Ziege wieder, die am 26. September 1902 mit Staphylokokken zu immunisieren begonnen wurde. Die Immunisierung wurde mit einem Staphylokokkenstamme vorgenommen, der frisch aus einem Lippenfurunkel gezüchtet und täglich auf frische Bouillon übergeimpft wurde. Derselbe tötete ein Kaninchen von 2500 g in der Dose von 0,5 ccm, intravenös gegeben, in 2×24 Stunden.



Am 26. September bekam die Ziege eine halbe Agarkultur, in 10 ccm steriler Bouillon aufgeschwemmt, intravenös injiziert.

Die Temperatur stieg am Abend desselben Tages auf 40,6, am Morgen des 27. September war dieselbe auf 39,3 wieder gefallen. Es wurde an demselben Tage eine weitere intravenöse Injektion, von einer Agarkultur aufgeschwemmt, in 5 ccm Staphylokokkenbouillonkultur gegeben. Die Temperatur stieg am Abend auf 41,2° und blieb während des folgenden Tages über 40°. Das Tier war munter und die Freßlust wenig vermindert. Am 29. September bekam die Ziege die dritte intravenöse Injektion von 2 Agarkulturen und 10 ccm Bouillonkultur. Die Temperatur stieg am 29. September auf 40,1° und hielt sich während des nächsten Tages auf ziemlich gleicher Höhe. Am Abend des 1. Oktober war sie zur normalen Höhe wieder zurückgekehrt. Die am 3. Oktober vorgenommene Wägung ergab, daß das Körpergewicht um 7 kg abgenommen hatte. Ferner stellte sich am 5. Oktober eine Entzündung des rechten hinteren Sprunggelenks ein, so daß das Tier im Gehen etwas behindert war. Nach 3 Tagen war die Gelenkentzündung wieder zurückgegangen. Am 10. Oktober war das Körpergewicht trotz der normalen Temperatur und unverminderter Freßlust um ein weiteres Kilogramm abgesunken. Trotz der starken Abnahme des Körpergewichtes bekam

die Ziege am 11. Oktober die vierte intravenöse Injektion von 4 Agarkulturen, aufgeschwemmt in 20 ccm Bouillonkultur. Das Tier reagierte auf diese letzte Injektion sehr stark, das Fieber hielt sich 2 Tage hindurch auf ca. $40,3^{\circ}$ und fiel in den nächsten Tagen langsam ab. Die bereits von der dritten Injektion herrührende Gelenkentzündung des rechten hinteren Sprunggelenks verschlimmerte sich wieder. Das Körpergewicht war am 17. Oktober auf 23 kg heruntergegangen. Am 22. Oktober wurde die erste Blutentnahme gemacht, also 11 Tage nach der letzten Injektion. Die Untersuchung des Serums ergab, daß dasselbe in einer Menge von 0,0004 ccm gegen 0,1 ccm Staphylolysin schützte und in einer Verdünnung von 1 : 2560 den Staphylococcus, der zur Immunisierung verwandt wurde, agglutinierte.

Ferner genügten 1,5 ccm, um ein Kaninchen von 2500 g gegen die 5fach tödliche Dose lebender Staphylokokken zu schützen.

Die Ziege hatte also innerhalb 26 Tagen durch intravenöse Injektion von ca. 7 Agarkulturen und 30 ccm Staphylokokkenbouillonkultur einen bedeutenden Grad von Immunität erworben.

Das Tier war nach der letzten Injektion ziemlich stark marantisch geworden, trotzdem die Temperatur außer einigen vorübergehenden Steigerungen dauernd normal blieb. Das Körpergewicht nahm stetig ab, so daß die Ziege am 7. November nur noch 21 kg wog.

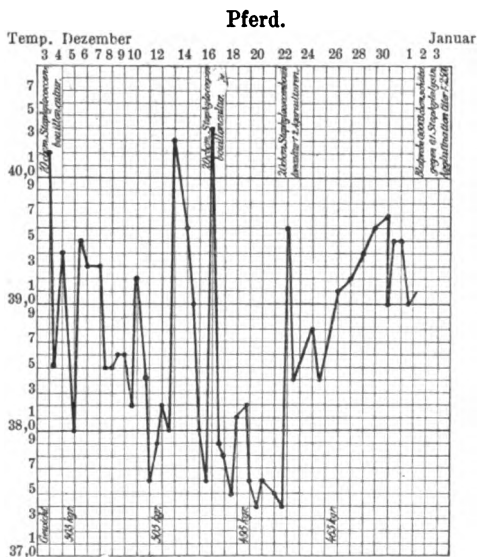
Am 11. November wurde die Ziege entblutet. Die nach der Entblutung vorgenommene Sektion ergab in keinem Organ makroskopische Veränderungen. Die Herzklappen waren vollkommen intakt, ebenso wenig konnten an den übrigen Organen irgend welche Veränderungen konstatiert werden. Nur die Synovia des hinteren Sprunggelenks war verdickt und die Gelenkkapsel mit einem serösen Exsudat gefüllt, das aber keine Staphylokokken enthielt. Es konnten mithin keine grobanatomischen Veränderungen konstatiert werden, die eine Aufklärung über den stetig zunehmenden Körperzerfall gaben.

Für die Gewinnung von Antistaphylokokkenserum ist es empfehlenswert, die Immunisierung in möglichst kurzer Zeit durchzuführen und die Tiere nach der letzten Injektion 14 Tage bis 3 Wochen stehen zu lassen, um sicher zu sein, daß alle Staphylokokken abgetötet sind. Nach dieser Zeit ist es am besten, die Tiere zu entbluten oder nach genügender Abnahme von Blut zu töten, da dieselben sich nur sehr schwer erholen.

Wie die vorstehende Immunisierung der Ziege demonstriert, gelingt es außerordentlich leicht, in ca. 4 Wochen mit verhältnismäßig geringen Kulturmengen ein wirksames Serum zu erlangen. Wenn die intravenöse Injektion mit der nötigen Vorsicht ausgeführt wird, erlebt man nie unangenehme Zwischenfälle. Es empfiehlt sich, die aufgeschwemmte Agarkultur vor der Injektion durch dünnes Filtrierpapier zu filtrieren, um größere Partikel zurückzuhalten, die zu Embolien Veranlassung geben können. Um an der Injektionsstelle keine Abscesse zu bekommen, injiziert man das Kulturmaterial nicht mit einer Stempelspritze, sondern läßt dasselbe mittels eines Trichters in die Vene einlaufen und spült mit steriler 0,85-proz. Kochsalzlösung nach. Geht man auf die oben beschriebene Weise vor, so vermeidet man jede Absceßbildung, die in der Halsgegend sehr leicht zur Kompression der Trachea Veranlassung geben kann.

Im Anschlusse hieran gebe ich das Immunisierungsschema eines Pferdes wieder, das vom 3. Dezember 1902 bis 22. Dezember 1903 in

Behandlung war und insgesamt 50 ccm Staphylokokkenbouillonkultur und 2 Agarkulturen injiziert bekam. Am 3. Februar 1903 hatte das Serum bereits einen starken Schutzwert, 0,0003 ccm neutralisierten 0,1 Staphylolysin und 1,5 ccm schützten ein Kaninchen gegen 0,5 ccm Staphylokokkenbouillonkultur. Es agglutinierte in einer Verdünnung von 1 : 2300. Auf eine nähere Beschreibung des Immunisierungsverfahrens kann ich verzichten, da genau in derselben Weise vorgegangen wurde wie bei der Ziege.



Erwähnen möchte ich noch, daß der Agglutinationstiter in keinem Verhältnis zum Schutzwert des Serums steht. Ich habe wiederholt die Beobachtung gemacht, daß Sera, die nur einen Agglutinationstiter von 1 : 60 aufwiesen, Kaninchen in der Dose von 1—1,5 ccm gegen 0,5 ccm Staphylokokkenkultur schützen.

Das Antistaphylokokken-serum ist in seiner Wirksamkeit ziemlich lange haltbar, namentlich das Serum, das von Ziegen gewonnen ist.

Sera, die von Schafen und Pferden stammen, schwächen sich schneller ab. Zur Konservierung kann man 0,5-proz. Karbolsäure oder Trikresol verwenden.

Für die Wertbemessung sei noch mitgeteilt, daß man ein betreffendes Serum als schützend anerkennen kann, wenn die Serumtiere die Kontrolltiere 3 Wochen überleben.

Darmstadt, 16. Juli 1904.

Nachdruck verboten.

Neue Methoden zur Anaërobenkultur und Anaërokokultur¹⁾.

Von Amtsphysikus Dr. A. Stüler, Ohrdruf.

Mit 7 Figuren.

Als ich im Anfange des Jahres 1900 zusammen mit unserem Bezirks-tieriarzte einen rauschbrandverdächtigen Fall untersuchte, empfand ich sehr unangenehm den Mangel eines einfachen und dabei genügend zuverlässigen Apparates zur Anaërobenkultur. Ich konstruierte damals aus dem akutesten Bedürfnis heraus einen Röhrenapparat ähnlich dem bekannten Buchnerschen, nur, wie ich glaube, hinsichtlich der Garantie des Luftabschlusses sicherer wie dieser. Derselbe ist in der Folge technisch verbessert worden und wird jetzt in der folgenden Form angefertigt.

1) An Stelle des hybridischen Anaërokokultur würde besser Anaërokepie, *αναερόκηπια*, treten, wenn es Aussicht auf Einbürgerung hätte.

Ein auf dem Boden des Standgefäßes aufgeschmolzenes, mit vier Löchern versehenes Röhrchen (siehe Fig. 1) dient als Unterlage für das eigentliche, oben offene, nicht mit Watte zu verschließende Kulturröhrchen. Ueber beide wird ein weiteres Reagenzrohr gestülpt. Soll der Apparat zur Kultur verwendet werden, so werden die beiden Röhrchen aus dem Standgefäße herausgenommen, das innere Röhrchen mit dem Nährboden beschickt, von unten wieder in das größere Rohr eingeschoben, letzteres mit Wattepfropf verschlossen und das Ganze in üblicher Weise, nur mit nach unten gerichtetem Watteverschluß, sterilisiert. Die Impfung geschieht nach Entfernung des Schlußpfropfens, indem in irgend einer geeigneten Weise das innere Röhrchen unten fixiert und das äußere für einen Augenblick abgezogen wird. Es gelingt sogar einer Person, mit der linken Hand beide Griffe selbst auszuführen, indem Ring- und Kleinfinger das innere Röhrchen, Daumen und Zeigefinger das äußere umfassen, während der Mittelfinger das allmähliche Herausfallen des inneren Rohres bis zum Freiwerden seiner Mündung überwacht und die rechte Hand impft.

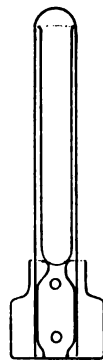


Fig. 1. Röhrchenapparat zur Absorptionsmethode.

Nach erfolgter Impfung wird in das eingeschmolzene Röhrchen des Standgefäßes 1 g trockener Pyrogallussäure eingeschüttet, die beiden Röhrchen auf- bzw. eingesetzt und in das Standgefäß bis zu seinem Halse Kalilauge eingefüllt, welche sofort mit Paraffinum liquidum überschichtet wird.

Anfangs April 1900 wandte ich dasselbe Prinzip gelegentlich meiner Vorarbeiten zur preußischen Kreisarztprüfung auf Plattenkulturen an, indem ich in die größere der gewöhnlichen großen Doppelschalen eine mit alkalischer Pyrogallollösung versehene kleine Schale einsetzte, darüber die Platten anordnete, die kleinere der Doppelschalen überstülpte und durch Eingießen von Paraffinum liquidum den Luftabschluß bewirkte. Das Verfahren war umständlich, gestattete keine gute Beobachtung der Kulturen, hatte keinen ganz zuverlässigen Verschluß und war wegen großen Materialverbrauchs teuer. Ich setzte deshalb gegen Ende April 1900 die Versuche in einfacherer Weise fort, indem ich etwas modifizierte Petri-Schalen (siehe Fig. 2) benutzte. In die kleinere derselben wurde der feste Nährboden eingetragen und geimpft, diese dann in die größere eingesetzt, alkalische Pyrogallollösung eingefüllt und letztere außen zum Luftabschluß mit flüssigem Paraffin überschichtet.

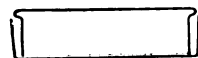


Fig. 2. Doppelschale zur Absorptionsmethode für feste Nährböden.

Dieses sehr einfache Verfahren war für flüssige Nährböden nicht anwendbar. Es mußte dafür ein besonderer Apparat konstruiert werden, dessen Herstellung anfangs technische Schwierigkeiten machte, schließlich aber gelang. Derselbe hat die durch nebenstehende Abbildung veranschaulichte Form (siehe Fig. 3). Die größere Schale besitzt einen in der Mitte erhöhten, hohlen Boden, dessen innere Oberfläche ihrerseits wieder in der Mitte vertieft ist, so daß man die Nährflüssigkeit direkt ein-

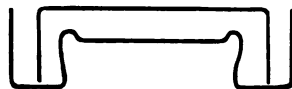


Fig. 3. Doppelschale zur Absorptionsmethode für flüssige Nährböden.

gießen oder in kleinen Schalen ohne Gefahr des seitlichen Abgleitens der letzteren aufsetzen kann. Nachdem die Deckelschale übergestülpt ist, wird auch bei diesem Apparate alkalische Pyrogallollösung eingefüllt und außen mit Paraffinum liquidum überschichtet.

Ich hatte bisher von einer Publikation dieser Methoden abgesehen, weil ich nach Uebernahme der Physikatsgeschäfte nicht im stande war, die Leistungsfähigkeit der Apparate genügend gründlich zu erproben. Inzwischen ist in der 3. Auflage der bekannten Anleitung zu hygienischen Untersuchungen von Emmerich und Trillich das Verfahren mit meinen Doppelschalen als brauchbare Methode beschrieben worden, und jüngst hat Jacqué die Leistungsfähigkeit desselben Apparates für die Kultur einer bestimmten Anaërobenart eingehend dargelegt (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. p. 18 ff.). Ich kann danach die Frage der praktischen Brauchbarkeit der Methode als im positiven Sinne gelöst betrachten. Es erwächst aber aus dieser wohlwollenden Beurteilung der Methode von berufener Seite für mich die Pflicht, die Grenzen der Anwendbarkeit derselben um so gewissenhafter und strenger zu prüfen. Das soll im folgenden mehr vom physikalischen Standpunkte aus versucht werden, und zwar wesentlich auf Grund eigener Versuche. Es ist eine ausführlichere Erörterung der in Betracht kommenden Verhältnisse um so notwendiger, weil ich nicht in allen Stücken mit den Ansichten der Autoren übereinstimme, welche in den letzten Jahren über den Wert der einzelnen Methoden der Anaërobenkultur geschrieben haben.

Fermi und Bassu haben in ihrer Arbeit (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. p. 563 ff.) auseinandergesetzt, weshalb eine Methode, welche absolute Sauerstofffreiheit verbürgt, für die Wissenschaft so außerordentlich wertvoll sein muß, und nachzuweisen gesucht, daß keine der bisherigen Methoden das Ziel der vollständigen Entfernung des Sauerstoffs erreicht. Zum ersten Male finde ich in dieser Arbeit die mir aus den eigenen Versuchen bereits bekannte Ursache ausdrücklich erwähnt, weshalb keiner der bisher existierenden Apparate absolut sauerstofffrei zu machen ist: die enorme Schwierigkeit, die letzten Reste der fest der Glasoberfläche adhärierenden Luft zu entfernen.

Wer nur einmal die Fabrikation der Röntgenröhren in den Werkstätten beobachtet hat, weiß, daß die Apparate beim Evakuieren stundenlang fortwährenden starken elektrischen Entladungen unter hochgradiger Erhitzung ausgesetzt werden müssen, um die adhärente Luft vom Glase zu lockern und der Einwirkung der Luftpumpe zugänglich zu machen. Dieselbe Schwierigkeit steht der vollständigen Entfernung des Sauerstoffs aus den Kulturapparaten entgegen. Man muß nach dieser Ueberlegung das Ziel der absoluten Sauerstofffreiheit der Kultur in den meisten Apparaten für vollständig unerreichbar erklären. Praktisch ist dies aber nicht von so hoher Bedeutung, wie man meinen könnte, weil, wie noch eingehender dargelegt werden wird, unter bestimmten Voraussetzungen dieser fest an der Oberfläche des Kulturapparates adhärierende Sauerstoff auch an derselben adhärent bleibt und also für die Kultur selbst gleichgültig ist.

Die sonst von Fermi und Bassu an den bisherigen Methoden im einzelnen geübte Kritik ist glücklicherweise nicht in vollem Umfange berechtigt. Sie haben sich zur Prüfung derselben eines Indikators bedient, der nur Unvollkommenes leistet, weil er immer nur für einen bestimmten Zeitpunkt den jeweiligen Zustand, die Abwesenheit oder Anwesenheit von Sauerstoff, zu prüfen gestattet, nicht aber während einer längeren Beobachtungsdauer den Wechsel der Erscheinungen, die Zunahme und Abnahme des Sauerstoffgehalts Schritt für Schritt zu beurteilen erlaubt, wie dies beim Zusatz von Methylenblau zum Nähr-

boden in vollkommenster Weise möglich ist. Die von den Autoren benutzte alkalische Pyrogalllösung versagt in dieser Hinsicht als Indikator vollständig. Sie würden mit Methylenblau zu anderen Schlüssen gekommen sein.

Um dies an einem Beispiele zu erweisen, mögen Versuche erwähnt werden, die ich am 7. März 1903 angestellt habe. Es wurden Reagenzröhrchen hoch mit Bouillon, Gelatine und Agar gefüllt, welche 2 Proz. Traubenzucker enthielten und unter sich gleichmäßig mit Methylenblau gefärbt waren. Sie wurden gleichzeitig $\frac{1}{2}$ Stunde im Dampftopfe erhitzt. Nach dieser Zeit war die Bouillon blaßgrünlichblau, die Gelatine reingelb, das Agar reinbräunlichgelb und die beiden letzteren Nährböden nur an der freien Oberfläche in dünnster Schicht bläulich. Unmittelbar nach der Entfernung aus dem Dampftopfe wurde ein Teil der Röhrchen mit einer höheren Schicht von flüssigem Paraffin oder Olivenöl übergossen und sämtliche Röhrchen möglichst schnell durch Einstellen in kaltes Wasser abgekühlt.

Die nicht überschichtete Bouillon färbte sich zusehends in ganzer Ausdehnung immer dunkler blau, bereits nach wenigen Stunden war aber auch die mit Paraffin überschichtete Bouillon ebenso wie die nicht überschichtete von der ursprünglichen Färbung, während die mit Olivenöl überschichtete noch heller und mehr grünlich war, im Verlaufe des Tages aber ebenfalls ganz blau wurde.

Die Gelatine färbte sich während des Abkühlens in ganzer Ausdehnung blaßgrünlichgelb; nach 20-stündigem Stehen hatte die oberflächliche lebhaft blaue Schicht bei den nicht überschichteten Röhrchen eine Höhe von 12 mm, bei den überschichteten war sie etwas weniger hoch.

Das Agar blieb während des Abkühlens unten bräunlichgelb und verhielt sich sonst im wesentlichen wie die Gelatine.

Außerdem wurden Röhrchen mit den drei gefärbten Nährböden vor der Behandlung im Dampftopfe mit flüssigem Paraffin überschichtet und länger ausgekocht. Unmittelbar danach waren sämtliche Nährmedien ohne jede Blau- oder Grünfärbung. Nach 18-stündigem Stehen aber war die Bouillon in ganzer Ausdehnung grünlichblau, nur erheblich heller als die erst nach dem Auskochen mit Olivenöl überschichtete Bouillon bei der ersten Revision (siehe oben) gewesen war. Bei Gelatine und Agar waren die unteren Schichten reingelb bezw. bräunlich-gelb, die obere blaue Schicht maß bei ersterer 8, bei letzterer 12 mm Höhe.

Die Paraffinschicht war kurz nach dem Auskochen vollkommen klar und farblos, wurde beim Abkühlen trübe und blieb dies bis zum anderen Tage, offenbar durch einen Nebel feinsten Wassertröpfchen, welche von der Oberfläche des Oels sich vermöge ihrer größeren Schwere allmählich senkten und schließlich mit dem Nährboden vereinigten. Diese an der Oberfläche der Oelschicht gewesenen Tröpfchen führten letzterem sofort wieder Sauerstoff aus der Atmosphäre zu, wie man aus der bald eintretenden eigentümlichen Violettfärbung des getrübten Paraffins schließen konnte. Außerdem aber zeigte sich zwischen Paraffin und Glaswand eine deutliche, sehr bald intensiv blau werdende Wasserschicht, welche in der Folge die Hauptstraße für den Wiedezutritt des Sauerstoffs zum Nährboden bildete.

Diese Versuche beweisen gegenüber Fermi und Bassu: 1) daß längeres Auskochen den Nährboden sauerstofffrei macht, 2) daß die Ueberschichtung mit Paraffin keinen vollständigen Schutz gegen das sofortige Wiedereindringen von Sauerstoff in den Nährboden gewährt.

Ich vermag deshalb die Beweiskraft des ersten Versuchs dieser Autoren nicht anzuerkennen, halte vielmehr in Uebereinstimmung mit vielen anderen die Kultur in hoher Schicht für die beste der bisher bekannten Methoden in Bezug auf die Sauerstofffreiheit des Nährbodens. Natürlich unter der Einschränkung, daß derselbe vor dem Wiedereintritt von Sauerstoff sorgfältigst geschützt wird. Letzteres ist aber auf verschiedene Weise in praktisch ausreichendem Maße möglich, wie die günstigen Kulturresultate vieler Beobachter bewiesen haben. Absolut einwandfrei auch bei strengster Kritik dürfte das folgende neue Verfahren sein. Wie erwähnt, gelangt der weitaus größte Teil des Sauerstoffs allmählich auf dem Wege der zwischen Paraffin und Glaswand



vorhandenen wässerigen Flüssigkeitsschicht durch Diffusion wieder zum Nährboden. Die Aufgabe muß sein, ihm diesen Weg abzuschneiden. Das ist möglich, indem man den Röhrchen die nebenstehende Form (siehe Fig. 4) gibt und in die Höhlung zwischen dem inneren engen Rohre und der Außenwand des ganzen Apparates ein wenig alkalischer Pyrogallol-lösung gießt. Der an der Glaswand hinwandernde Sauerstoff muß so in letztere eintreten und wird von ihr absorbiert. Indessen vollständig genügt diese Vorsichtsmaßregel allein noch nicht, weil wenigstens am ersten Tage nach dem Auskochen des Nährbodens auch Sauerstoff durch die herabfallenden Nebeltröpfchen, wie oben nachgewiesen wurde, jenem zugeführt wird. Diese müssen abgehalten werden durch ein Dach, welches man über dem inneren, engen Röhrchen solange anbringt, als das Paraffin noch getrübt ist. Als zweckmäßig

hat sich mir eine Löschblattkappe bewährt, die mit alkalischer Pyrogallol-lösung getränkt war und dicht aufgestülpt wurde.

Es wird bei diesem Verfahren folgendermaßen vorgegangen. Durch das enge Röhrchen wird mittels eines geeigneten Trichterrohres der Nährboden in die Apparate eingebracht, bis er den untersten Teil des engen Röhrchens erfüllt. In einem der Apparate wird der Nährboden mit Methylblau gefärbt, damit man an diesem Kontrollröhrchen sehen kann, wann die Sauerstofffreiheit des Nährbodens eingetreten ist. Dabei ist zu berücksichtigen, daß Gelatine, Agar und Bouillon verschieden lange Zeit zur Entfärbung brauchen. Es muß deshalb, wenn verschiedene Nährböden zugleich verarbeitet werden, von jedem einzelnen ein besonderes Kontrollröhrchen angefertigt werden. Die gefüllten Apparate werden mit Wattepfropf verschlossen und an zwei aufeinanderfolgenden Tagen in üblicher Weise im Dampftopfe ausgekocht. Am dritten Tage wird unter den nötigen aseptischen Vorsichtsmaßregeln Paraffinum liquidum eingegossen, bis dasselbe die Mündung der inneren Röhrchen um etwa 3 cm überragt und sofort je eine kleine Pyrogallussäuretablette, wie sie zur Herstellung des photographischen Entwicklers dient, in den Raum neben dem Innenröhrchen eingeführt. Darauf werden die Apparate bis fast zur Entfärbung des Kontrollröhrchens gekocht, sodann in jedes vorsichtig einige Tropfen starker Kalilauge auf die inzwischen verflüssigte Pyrogallussäure nachgegossen und auf die Mündung der Innenröhrchen je ein runder, aus dickem Löschkarton hergestellter Deckel, welcher mit wenig sirupdicker, aus Pyrogallussäurepulver und 50-proz. Kalilauge frisch bereiteter Lösung durchtränkt ist, aufgelegt und nun die sämtlichen Apparate bis zur vollständigen Entfärbung des blaugefärbten Kontrollröhrchens gleichzeitig im Dampftopfe erhitzt. Hierauf herausgenommen, werden sie zum allmählichen Abkühlen hingestellt. So-

bald das Paraffin in allen Apparaten sich vollkommen geklärt hat, wird mit frisch ausgeglühter Pinzette das Trichterdach entfernt und es kann nun die Impfung der Röhrchen erfolgen.

Es ist selbstverständlich, daß dieses Sauerstoffventil nicht nur für Röhrenapparate, sondern auch für Erlenmeyersche Kolben (siehe Fig. 5) u. dergl. paßt. Auch ließe sich eine Rivassche platte Röhre nach demselben Prinzip bequem herstellen und mit Sicherheit auch ohne Schwefelammonium sauerstofffrei machen ¹⁾.

So sicher nun dieses Ventil den Zutritt von Sauerstoff aus der Atmosphäre zum sauerstofffrei gemachten Nährboden verhütet, so wenig vermag es letzteren ganz vor dem an der Innenwand des Glasröhrchens fest adhärierenden, durch das Kochen nicht entfernten Sauerstoff zu schützen. Letzterer sitzt ja allerdings an der Glasoberfläche so fest, daß er bei genügender Vorsicht nicht in merklicher Weise in den Nährboden übertritt. Wenn auch theoretisch wohl anzunehmen ist, daß immerwährend einige Sauerstoffmoleküle von der Glaswand frei werden, so werden dieselben wahrscheinlich von dem Nährboden bei so geringfügigem Uebertritt sofort chemisch gebunden. Jedenfalls ist auch bei längerem Aufheben der Apparate unter gewissen Vorsichtsmaßregeln nie eine Bläung des Nährbodens meinerseits bemerkt worden. Eine solche trat aber bei einem Gelatineröhrchen ein, als es an umschriebener Stelle lebhaft vom diffusen Tageslicht getroffen wurde, und zwar nur an der belichteten Stelle. Diese Erscheinung läßt sich meines Erachtens kaum anders erklären, als daß durch den Einfluß des Sonnenlichtes die der Glasoberfläche fest adhärierenden Sauerstoffmoleküle gelockert werden und an den belichteten Stellen in den Nährboden übertreten. Daß eine Einwirkung von Elektrizität in geeigneter Form oder eine plötzliche Erwärmung ähnliches zu stande bringen können, ist theoretisch wahrscheinlich, wenn auch praktisch noch nicht geprüft. Man wird deshalb vorsichtigerweise die Apparate an einem dunklen, elektrischen Entladungen nicht ausgesetzten Orte aufbewahren und plötzliche Erwärmungen vermeiden. Dann wird man nach meinen bisherigen Erfahrungen annehmen können, daß der Nährboden sauerstofffrei bleibt.

Es ist hier der rechte Ort, die Leistungsfähigkeit meiner Methoden gegenüber anderen einmal kritisch zu beleuchten. Anaërobenkulturen werden immer in einem mehr oder weniger komplizierten Hohlraume angelegt, der entweder ganz oder wenigstens zum größten Teile aus Glas besteht. Die zunächst interessierende Frage ist die, wie dieser Hohlraum gegen die atmosphärische Luft abgeschlossen ist. Es ist klar, daß der vollkommenste Abschluß der eines einheitlichen Glashohlraumes durch Zuschmelzen ist. Wo zum Abschluß andere Körper benutzt werden müssen, ist die Sache sofort sehr mißlich. Es ist oben eingehend dargelegt worden, daß eine einfache Flüssigkeit ohne besondere Vorrichtungen keinen zuverlässigen Schutz vor dem Einflusse der Außenluft bewirkt. Ein fester Körper, wie ein Kork, Gummistöpsel, Glasstopfen, Fett, Lack u. dergl. sind nicht im stande, einen unbedingt zuverlässigen Luftabschluß zu gewährleisten. Dagegen vermag die Verbindung zweier Flüssigkeiten in der Weise, wie sie bei den vorstehend

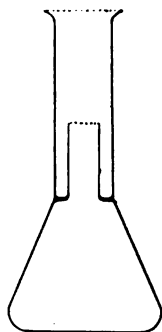


Fig. 5. Kulturkolben zur Auskochmethode für flüssige Nährböden.

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. p. 840.

beschriebenen neuen Methoden benutzt wird, einen absolut einwandsfreien Abschluß zu garantieren, weil der etwa zwischen der eigentlichen Sperrflüssigkeit, dem Paraffinöl, und der Glaswand hindurchdiffundierende Sauerstoff mit Sicherheit von der alkalischen Pyrogallollösung absorbiert wird. In dieser Hinsicht sind die oben angeführten neuen Methoden also zuverlässig.

Die zweite Frage ist die, wie in dem Kulturraume die Einwirkung des Sauerstoffs auf die Bakterien vermieden wird. Dabei ist zu unterscheiden die Sauerstofffreiheit des Nährbodens, die der Kulturatmosphäre bzw. der dem Nährboden unmittelbar benachbarten indifferenten Sperrflüssigkeit und die der Innenfläche des Kulturraumes.

Um mit letzterer zu beginnen, so ist schon ausgeführt worden, daß der der Glasoberfläche fest adhärierende Sauerstoff durch Auskochen nicht einmal aus den verhältnismäßig einfachen, oben beschriebenen Röhrchenapparaten zu entfernen ist. Viel ungünstiger liegen in dieser Hinsicht die Verhältnisse bei allen komplizierteren Apparaten, bei denen ein Auskochen des ganzen Apparatsystems unmöglich ist. Denn da hier die Innenfläche des Kulturraumes nicht erhitzt gewesen ist, so ist auch nicht einmal ein Teil des adhärenen Sauerstoffs entfernt worden, wie dies beim Auskochen geschieht. Es werden deshalb die oben erwähnten, zu einer Lockerung des adhärenen Sauerstoffs geeigneten Kräfte bereits bei einem viel geringeren Grade der Einwirkung ein Freiwerden von Sauerstoff in dem Kulturraume bewirken können.

Versteht man unter Anaërokultur eine solche Kultur, bei welcher ein absoluter Sauerstoffmangel im Kulturraume dauernd herrscht, so ist nach vorstehendem klar, daß schon wegen des einen Punktes, der Anwesenheit adhärenen Sauerstoffs an der Innenfläche des Kulturraumes, weder eine der bisher bekannten noch auch die oben beschriebenen neuen Methoden als zur Anaërokultur im absoluten Sinne geeignet gelten können. Es wird am Schlusse dieser Arbeit angegeben werden, in welcher Weise vielleicht das Problem einer absoluten Anaërokultur gelöst werden könnte.

Ist dieses Postulat einer absoluten Anaërokultur mehr ein theoretisches, so fragt es sich im Gegensatze hierzu, was vom Standpunkte der Praxis vernünftigerweise in der gedachten Richtung verlangt werden kann. Dafür genügt es aber offenbar, wenn der an der Innenfläche des Kulturraumes adhärierende Sauerstoff bei genügender Vorsicht nicht frei gemacht wird, so daß er nicht in den Nährboden und die Kulturatmosphäre oder die Sperrflüssigkeit übertreten kann. Dieser praktischen Forderung genügt nach meinen bisherigen Erfahrungen die oben beschriebene Auskochmethode mit Sauerstoffventil bei einiger Vorsicht vollkommen. Man wird sie deshalb als Methode der Anaërokultur anerkennen können, zumal sie auch in Bezug auf die beiden noch zu besprechenden Punkte einwandsfreie Resultate ergibt. Meine Absorptionsmethoden dagegen wird man schon wegen der Gefahr des Uebertrittes eines Teiles adhärenen Sauerstoffs in Nährboden und Kulturatmosphäre nicht als solche für Anaërokultur gelten lassen.

Wie steht es nun bei meinen Absorptionsapparaten mit der Sauerstofffreiheit der Kulturatmosphäre? Nach unseren bisherigen Anschauungen soll die Sauerstofffreiheit des Kulturraumes bei der Absorption mit Pyrogallussäure und Kalilauge in 1—2 Tagen erreicht sein. Ich bin nicht in der Lage, den Nachweis für die Richtigkeit dieser Annahme exakt zu erbringen. Jedenfalls sind meine einfachen Doppelschälchen für eine relativ schnelle Absorption günstig gebaut. Immerhin ist aber

ein Zeitraum von 1—2 Tagen eine verhältnismäßig lange Frist und, wie Ghon und Sachs (dieses Centralbl. Originale. Bd. XXXII. p. 408) treffend hervorheben, bei empfindlichen Arten nicht ohne Bedeutung. Es ist deshalb meine Absorptionsmethode in der von Jacqué empfohlenen gewöhnlichen Ausführung¹⁾ bei sehr empfindlichen Anaërobiern nicht anwendbar. Hier müßte die Absorption mit der Wasserstoffverdrängung in der Weise kombiniert werden, daß unmittelbar nach dem Einbringen des geimpften bzw. nach der Impfung des bereits eingebrachten Nährbodens Wasserstoff mittels eines dünnen Gummischlauches eingeleitet, erst dann die alkalische Pyrogallollösung eingegossen und nun mit dem Einleiten von Wasserstoff genügend lange fortgefahren würde. Auf diese Weise ließe sich die erwähnte Schwierigkeit umgehen, die alkalische Pyrogallollösung würde dann die letzten Reste von Sauerstoff aus der Kulturatmosphäre absorbieren und den Zutritt von Sauerstoff von außen mit Sicherheit verhindern. In dieser Modifikation müßte das Verfahren mindestens dieselben Resultate ergeben als die seitherigen komplizierteren Methoden.

Was schließlich den letzten Punkt, die Sauerstofffreiheit des Nährbodens betrifft, so ist diese bei meiner Methode, wie ich glaube, ebenso wenig zu erreichen als bei den Verdrängungsmethoden. Ich befinde mich in dieser Hinsicht im Gegensatze zu anderen Beobachtern, insbesondere zu Hammerl. Derselbe hat (dieses Centralbl. Ref. Bd. XXX. p. 663. Orig. Bd. XXXI. p. 591) mitgeteilt, daß bei dem von ihm geübten Verfahren mit sehr konzentrierter, in einem porösen Bieruntersetzer verteilter Pyrogallokalilauge auch der Nährboden nach 1—2 Tagen sauerstofffrei würde. Ich habe indessen bei Anwendung seines Verfahrens in meinen Doppelschalen niemals eine Entfärbung des mit Methylenblau gefärbten Nährbodens erreicht, auch nicht bei längerer Beobachtungsdauer.

Die von Jacqué so günstig beurteilte Doppelschalenmethode hat also noch den weiteren Nachteil, daß nach meinen Erfahrungen der Nährboden nicht sauerstofffrei wird; sie ist auch aus diesem Grunde zur Anaërokultur unbrauchbar, wenschon sie namentlich in den zuletzt erwähnten Modifikationen sich voraussichtlich sehr gut zur Anaërobenkultur bewähren wird, wobei ein absoluter Sauerstoffmangel ja nicht erforderlich ist.

Sollte jemand gegen die Methode etwa das Bedenken hegen, daß die Kalilauge an den Wänden der Deckelschale hinaufkriechen und den Nährboden verunreinigen könnte, so kann ich aus eigenen Versuchen konstatieren, daß mit Lackmus violettgefärbter Nährboden in den Schalen niemals blau geworden ist.

Das Verfahren von Hammerl ist sonst ganz vorzüglich, und zwar deshalb, weil die Verteilung der Absorptionsflüssigkeit in einer porösen Pappe eine erhebliche Vergrößerung der absorbierenden Oberfläche bewirkt. Ich kann deswegen auch für meine Schalen nur dringend empfehlen, einen Teil der Pyrogallollösung auf einer derartigen Pappe frei in der Kulturatmosphäre mittels eines leicht herzustellenden Drahtdreifußes anzubringen. Der Rest der Flüssigkeit ist aber unbedingt auf den Boden der Schale zu gießen, weil nur so ein absolut sicherer Sauerstoffabschluß nach außen ermöglicht wird.

1) Jacqué hat wertvolle Angaben über die sehr zweckmäßige Art seines Vorgehens beim Füllen der Doppelschalen gemacht (l. c. p. 29).

Einen erheblichen Nachteil aber hat die Hammerlsche Vorschrift: Es ist die stark wasserentziehende Wirkung der starken Kalilösung. Bei einem meiner Kontrollversuche betrug der Gewichtsverlust der anfangs 21 g schweren Nährgelatine nach Verlauf von genau 72 Stunden volle 3 g. Dies bedeutet eine Wasserentziehung von 14,3 Proz. Daß eine solche bei längerer Kulturdauer nicht ganz gleichgültig sein kann, ist selbstverständlich. Ich halte aus diesem Grunde die Verwendung von derartig starker Kalilauge für unzweckmäßig.

Für die neue Auskochmethode mit Sauerstoffventil muß hier noch ein Punkt nachträglich kurz erörtert werden: es ist die Frage, ob die den Nährboden bedeckende Sperrflüssigkeit, das Paraffinum liquidum, absolut sauerstofffrei bleiben wird. Es wäre immerhin denkbar, daß diese an sich sauerstofffreie Flüssigkeit dennoch geringen Spuren von Sauerstoff den Durchtritt gestattete. Sollte sich dies etwa noch herausstellen, so müßte die Mündung des inneren Röhrchens dauernd mit der absorbierenden Löschblattkappe bedeckt bleiben, und diese dürfte nur für den Moment der Impfung entfernt werden.

Die Sauerstoffventilröhren und -flaschen sind nun nicht für alle Fälle bequem. Es wäre deshalb sehr erwünscht, eine zuverlässige Anaërokultur, wenn auch nur in dem oben erörterten praktischen Sinne,

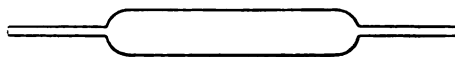


Fig. 6. Kulturröhre zur kombinierten Auskoch-Wasserstoffmethode.

für Platten-, bzw. Rollröhrchenmethode zu besitzen. Dies ist möglich in folgender Weise (s. Fig. 6). Stärkere Glasröhren, welche beiderseits in dünne, axiale Röhrchen auslaufen, werden hori-

zontal in ein passendes Gestell gelegt, mit der nötigen Vorsicht, um ein Beschmutzen der letzteren zu vermeiden, mit der entsprechenden Menge schwach mit Methylenblau gefärbter Nährgelatine gefüllt und nach Ueberbinden ihrer beiden Oeffnungen mit Wattepolstern an zwei aufeinanderfolgenden Tagen in einem geeigneten langen Dampftopfe sterilisiert. Am 3. Tage kommen sie wieder in denselben, nachdem das eine Endröhrchen mittels Gummischlauches nach Entfernung des Wattepfropfens mit einem Wasserstoffentwicklungsapparat verbunden ist. Erst nachdem die Gelatine fast entfärbt ist, wird ein lebhafter Wasserstoffstrom durchgeleitet und mit dessen Durchleitung ununterbrochen fortgefahren, bis die sämtlichen folgenden Operationen beendet sind. Nach vollständiger Entfärbung der Gelatine werden die Röhrchen unter strenger Wahrung ihrer horizontalen Lage mitsamt dem Gestelle aus dem Dampftopfe entfernt, bis zum genügenden Abkühlen hingestellt und nun nach Entfernung des zweiten Wattepfropfens mittelst langen Platindrahtes durch das freie Endröhrchen geimpft. Zu diesem Zwecke müssen die Röhrchen vorsichtig so weit geneigt werden, daß die Nährgelatine die innere Mündung des Röhrchens berührt. Letzteres wird sofort nach geschehener Impfung mittels Spiritusgebläses zugeschmolzen, wobei, um spätere Risse zu verhüten, das Röhrchen nach Zusammenfallen der Wandungen etwas ausgezogen werden muß. Hierauf wird durch geeignete Maßregeln im Inneren der Kulturröhre Atmosphärendruck hergestellt und das andere Endröhrchen, während es noch in Verbindung mit dem Wasserstoffapparate bleibt, in derselben Weise zugeschmolzen. Nachdem so die Röhre verschlossen, ist es ein leichtes, durch Rollen derselben in einer Wanne mit kaltem Wasser eine tadellose Rollröhre herzustellen.

Diese Methode ergibt ebenso sichere Resultate, wie das Auskochen

mit Sauerstoffventil. Sie hat aber den Vorzug, daß man die Kolonien gut unter dem Mikroskop beobachten, und daß man in bequemster Weise die von den Bakterien gelieferten Gase untersuchen könnte; letzteres ist allerdings in unbequemerer Weise auch bei der anderen Methode möglich.

Handlicher und für die mikroskopische Untersuchung noch geeigneter läßt sich dieses Verfahren dadurch gestalten, daß man an Stelle der Röhren platte, runde Flaschen mit zwei nebeneinander aufgeschmolzenen Röhrchen verwendet (s. Fig. 7) und mit diesen in entsprechender Weise verfährt.

Zu beachten ist bei dieser Methode, daß die Nährgelatine etwas verdünnt werden muß, weil beim Durchleiten des Wasserstoffes eine nicht unerhebliche Wasserverdunstung stattfindet.

Diese Methode verhält sich in Bezug auf das Vorhandensein adhärrierenden Sauerstoffes an der Innenfläche genau ebenso wie die Auskochmethode mit Ventil; sie ist vom praktischen Standpunkte ebenso als zur Anaërokultur geeignet anzusehen, wie jene.

Sollte aber einmal aus wissenschaftlichen Gründen eine auch theoretisch absolut einwandsfreie Anaërokultur verlangt werden, so müßte versucht werden, den an der Innenfläche des Kulturglases adhärrierenden Sauerstoff ganz zu entfernen. Da dies ohne Evakuierung kaum möglich sein dürfte, könnten platte Kulturflaschen dazu nicht verwendet werden, weil sie springen würden. Am besten würden sich wohl Röhren eignen, etwa von der Form der eben beschriebenen. Diese müßten zunächst in leerem Zustande, ohne Nährboden, stark erhitzt, evakuiert, mit elektrischen Entladungen behandelt und vielleicht noch mit einer Gefrierkammer von sehr niedriger Temperatur verbunden werden. Erst wenn so mit Sicherheit aller Sauerstoff entfernt wäre, müßte absolut sauerstofffreier Wasserstoff eingelassen, der vorher sauerstofffrei gemachte Nährboden eingebracht, im Wasserstoffstrom geimpft und der Apparat durch Zuschmelzen geschlossen werden. Ob die so in ihren Hauptzügen skizzierte Methode freilich in ihren Einzelheiten sich absolut einwandsfrei gestalten ließe, ist eine Frage, die ich für meine Person so lange als eine offene behandeln möchte, bis sie praktisch erprobt wäre.

Die einfachen Doppelschalen (Fig. 2) sind von der Firma Franz Hegershoff, Leipzig, alle übrigen Apparate von der Firma Emil Gundelach, Gehlberg, zu beziehen.

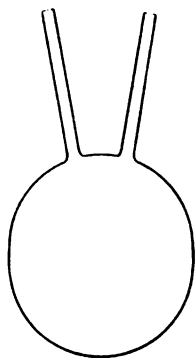


Fig. 7. Kulturflasche zur kombinierten Auskoch-Wasserstoffmethode.

Nachdruck verboten.

Eine Vereinfachung und Vervollkommnung meiner Methylenazur-Methylenblau-Eosin-Färbemethode zur Erzielung der Romanowsky-Nochtschen Chromatinfärbung.

[Aus dem Institut für Schiffs- und Tropenkrankheiten in Hamburg.
Leiter: Physikus Dr. Nocht.]

Von G. Giemsa, Assistenten am Institut.

Vor zwei Jahren hatte ich ¹⁾ eine Färbemethode für die Chromatinfärbung ²⁾ ³⁾ bei Malariaparasiten publiziert, bei welcher ich die Mischung einer Azur II-Lösung ⁴⁾ mit einer Eosinlösung empfahl.

Die Gründe, aus denen ich das Arbeiten mit dem chemisch scharf charakterisierten reinen Azur und Methylenblau demjenigen mit alkalischer zersetzten Methylenblaulösungen vorzog, habe ich seinerzeit so eingehend besprochen, daß ich heute der Kürze wegen von einer nochmaligen Erörterung derselben absehen kann.

Freilich war auch diese Methode, obwohl sie in vieler Hinsicht den anderen gegenüber eine Verbesserung bedeutete, mit mancherlei Mängeln behaftet. Der größte unter ihnen bestand darin, daß man, wie bei den meisten anderen Vorschriften, immer noch mit zwei verschiedenen Farblösungen arbeiten mußte. Aufnahme von Luftfeuchtigkeit seitens des ziemlich hygroskopischen trockenen Azurs, Ungenauigkeiten beim Abwägen der geringen Farbstoffmengen, die man zu den Lösungen benötigte, ferner die anfangs von mir nicht beobachtete leichte Zersetzbarkeit der dünnen Eosinlösungen boten eine Reihe von Fehlerquellen, die der Berücksichtigung bedurften, und die bei Forschern, welche sich unter Außerlassung derselben hart an meine, bezüglich des Mischungsverhältnisses gegebenen Vorschriften klammerten, die Brauchbarkeit der Methode in Frage stellen konnten.

Diesen Fehlerquellen ist es wohl auch zuzuschreiben, daß manche Autoren unter anderen, Laveran und Mesnil ⁵⁾, welche meine Methode hauptsächlich für die Färbung der Trypanosomen empfehlen, die Stärke der Farblösungen etwas modifiziert haben.

Bei der ungeahnten Bedeutung, welche die Chromatinfärbung in den letzten Jahren außer für die Diagnose und Erforschung der Malaria, für die gesamte Protozoenforschung, sowie für die Bluthistologie überhaupt gewonnen hat, schien es mir wünschenswert, die Färbemethoden, wenn möglich, noch stabiler zu gestalten.

Die in meiner letzten Abhandlung beschriebenen, von mir seinerzeit ausgeführten theoretischen und praktischen Untersuchungen über die Eigenschaften der hier in Frage kommenden Farbstoffe gaben mir hierzu manch' wertvollen Fingerzeig und verhalfen mir schließlich zur Verwirklichung des schon längst gehegten Gedankens, den kombinierten

1) Giemsa, Färbemethoden für Malariaparasiten. (D. Z. Bd. XXXII. p. 307.)

2) Romanowsky, Zur Frage der Parasitologie und Therapie der Malaria. Deutsch von P. Werner. Petersburg 1891.

3) Nocht, Zur Färbung der Malariaparasiten. (D. Z. Bd. XXIV. p. 839) und Nachtrag hierzu. (D. Z. Bd. XXV. p. 17.)

4) Azur II = reines Methylenazurchlorhydrat + Methylenblaurchlorhydrat zu gleichen Teilen.

5) A. Laveran und F. Mesnil, Trypanosomes et Trypanosomiasis. Paris (Lasson et Cie.) 1904.

basischen und sauren Farbstoff in einer einzigen geeigneten Lösung zur Färbung zu verwenden.

Wie bekannt, bedienten sich Reuter¹⁾, Leishman²⁾ und Wright³⁾ schon seit längerer Zeit einer ähnlichen Methode, bei welcher der Niederschlag, der beim Zusammengießen einer alkalizersetzten Methylenblaulösung und einer Eosinlösung entsteht in methylalkoholischer Lösung, die kurz vor der Färbung mit Wasser verdünnt wird, zur Anwendung gelangt. Die nach diesen Vorschriften erzielten Färbungen befriedigten jedoch alle diejenigen, welche nach einer leidlich brauchbaren anderen Methode zu arbeiten gewohnt waren, nicht. Ich hoffte, daß sich vielleicht mehr erreichen ließe, wenn man anstatt der auf die eben beschriebene Weise erhaltenen, stark mit Methylviolett verunreinigten Farbstoffe reines Azur-Eosin und Methylenblau-Eosin⁴⁾ in gleichem Lösungsmittel anwendete, also diejenigen Farbkörper, die nachgewiesenermaßen allein die färberisch aktive Rolle bei der Romanowsky-Färbung spielen. Hiermit angestellte Versuche befriedigten zwar, wie ich bereits andern Orts⁵⁾ bemerkte, mehr als die Färbung mit den von Grüber bezogenen Originalpräparaten der drei vorher genannten Forscher, indessen nicht so, daß ich die Methode empfehlen zu dürfen glaubte. Da mir die Technik dieser Färbemethode indessen sehr einfach und sympathisch schien, stellte ich kürzlich neue Versuche in dieser Richtung an.

Der Hauptgrund der geringen Erfolge lag zweifelsohne in der geringen Löslichkeit dieser an die verschiedenen Farbbasen gebundenen Eosinsalze in Methylalkohol. Diese hatte zur Folge, daß die Farblösung, die obendrein mit der etwa zehnfachen Menge Wasser verdünnt werden mußte, zu langsam und zu wenig intensiv färbte. Versuchte man den Schaden dadurch wett zu machen, daß man größere Mengen der Farblösung zum Wasser zumischte, so färbte sich das Präparat wegen der Anwesenheit zu reichlicher Mengen Alkohol überhaupt nicht.

Bei der Leishmanschen Methode, bei welcher das unfixierte Blutpräparat, um es gleichzeitig zu härten, mit der alkoholischen Farblösung übergossen wird, kommt noch der Uebelstand hinzu, daß der ebenso leichtflüssige wie leichtflüchtige Methylalkohol gar zu oft schon vor dem später zu erfolgenden Vermischen mit Wasser vom Deckglas herabfließt. Der zurückbleibende kleine Rest trocknet dann sehr leicht ein und hinterläßt einen höchst störenden Farbrückstand, der ohne Gesamtschädigung des Präparates nicht mehr zu entfernen ist.

Um nun zu dem gewünschten Ziele zu gelangen, mußte unbedingt ein besseres indifferentes Lösungsmittel für das Azur II-Eosin gefunden werden. Es mußte zugleich die Eigenschaft haben, sich mit Wasser zu mischen.

Ein solches fand ich schließlich nach langem Suchen in dem dreiwertigen Alkohol Glycerin.

Dieses vermochte bei einer Temperatur von 60° 0,9 Proz. des feingepulverten Farbstoffes aufzulösen, ohne ihn bei Stubentemperatur wieder auszuscheiden.

1) Reuter, Ueber den färbenden Bestandteil der Romanowsky-Nochtschen Malariaplasmodienfärbung, seine Reindarstellung und praktische Verwendung. (D. Z. Bd. XXX. p. 248.)

2) Leishman, Not on a simple and rapid method of producing Romanowsky staining in malaria and other blood films. (British medical journal. 21. Sept. 1901.)

3) Wright, A rapid method for the differential staining of blood films and malarial parasites. (Journ. of Medical Research. Vol. VII. No. 1.)

4) Ich nenne diesen Farbstoff der Kürze wegen fortan Azur II-Eosin.

5) Giemsa, Färbemethoden für Malariaparasiten. (D. Z. Bd. XXXII. p. 307.)

Noch zweckmäßiger schien mir ein Gemisch aus Glycerin und absolutem Methylalkohol, denn erstens mischte es sich besser mit Wasser als das spezifisch schwere und dickflüssige Glycerin, dann aber wurde durch den Alkohol jede Einwirkung des Glycerins auf die morphologische Beschaffenheit der Zelle kompensiert. Die Löslichkeit des Farbstoffes wurde in diesem Gemisch zwar eine etwas geringere, blieb aber für den beabsichtigten Zweck durchaus hinreichend. Auch der gewöhnliche Aethylalkohol erwies sich als Verdünnungsmittel des Glycerins brauchbar. Weniger geeignet war hingegen eine Reihe anderer Alkohole, desgleichen Anilin u. a. m.

Mit dem Herausfinden des besseren Lösungsmittels war indessen zu meiner großen Verwunderung der Endzweck noch nicht erreicht. Im Augenblicke des Verdünnens einer solchen gesättigten Farblösung mit der zehnfachen Menge Wasser fiel nämlich fast der ganze Farbstoff wieder aus und die Farbflotte zeigte dann nur noch etwa die Eigenfärbung und Farbkraft der Reuterschen¹⁾, Leishmanschen²⁾ bzw. Wrightschen³⁾ Mischung. Ganz anders verhielt es sich, als ich der Azur II-Eosinlösung einen Ueberschuß von basischem Farbstoff, d. i. von Azur II hinzufügte, und zwar in einem ähnlichen Verhältnis, wie ich es an der Hand stöchiometrischer Berechnung für meine frühere Färbemethode als zweckmäßig angeben konnte.

Der Erfolg war ein glänzender. Die Färbung trat mit großer Schnelligkeit und Präzision ein und war von einer Schönheit, wie ich sie bisher nur in seltensten Fällen gesehen hatte. Insbesondere fiel als höchst angenehm auf, daß sich der allmählich ausfallende Niederschlag, der nun einmal nicht zu umgehen ist, mit einem Wasserstrahl außerordentlich leicht abspülen ließ, so daß sich die Präparate durch eine seltene Klarheit auszeichneten und eine Nachbehandlung mit Alkohol überflüssig wurde. Ich glaube dies dem Glycerin zuschreiben zu dürfen, welches den Niederschlag an den Blutelementen nicht fest anhaften läßt. Selbst nach 24-stündigem Belassen des Präparates in der Farbflotte ließ sich dieses bequem durch den Wasserstrahl reinigen.

Ueber die Haltbarkeit der Farblösung kann ich noch nichts abschließendes berichten, da mir erst eine zwanzigtägige Beobachtungszeit zu Gebote steht. In dieser Zeit blieb eine Lösung, welche dauernd einer Temperatur von 28—30° ausgesetzt war, gänzlich unverändert. Ich vermute daher, daß sie sich auch noch längere Zeit halten wird. Unter dieser Voraussetzung stehe ich nicht an, die Methode aufs angelegentlichste zu empfehlen.

Herstellung der Farblösung⁴⁾.

Azur II-Eosin 3,0 g und
Azur II 0,8 g

1) Reuter, Ueber den färbenden Bestandteil der Romanowsky-Nochtschen Malaria-plasmodienfärbung, seine Reindarstellung und praktische Verwendung. (D. Z. Bd. XXX. p. 248.)

2) Leishman, Not on a simple and rapid method of producing Romanowsky staining in malaria and other blood films. (British Medical Journal. 21. Sept. 1901.)

3) Wright, A rapid method for the differential staining of blood films and malarial parasites. (Journ. of Medical Research. Vol. VII. No. 1.)

4) Die fertige, genau nach dieser Vorschrift angefertigte Farblösung ist von der Firma Dr. Grübler & Cie. in Leipzig unter dem Namen „Giemasche Lösung für die Romanowsky Färbung“ zu beziehen, desgleichen die Azurpräparate, aus denen sie hergestellt ist. Wegen Auskunfterteilung wende man sich direkt an Dr. Grübler's Laboratorium in Leipzig (Inh. Dr. K. Hoffborn).

werden im Exsikkator über Schwefelsäure gut getrocknet, aufs feinste gepulvert, durch ein feinmaschiges seidenes Sieb gerieben und in

Glycerin 250,0 g (Merck. chem. rein)

bei 60° unter Schütteln gelöst. Hierauf wird

Methylalkohol 250,0 g (Kahlbaum I)

hinzugefügt, den man vorher auf 60° angewärmt hat, gut geschüttelt, 24 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und filtriert. Die Lösung ist nun gebrauchsfertig und kann in Tropfgläser gefüllt werden.

Bei dieser Vorschrift, welche mir im Verlauf der zahlreichen Versuche als die beste dünkte, sind die Mengen des Farbstoffes so hoch berechnet, daß er sich in der Wärme völlig löst, daß jedoch bei Zimmertemperatur ein geringer Teil wieder ausfällt. Man hat es demnach mit einer kalt gesättigten Lösung zu tun.

Selbstredend wird man bei Bedarf das Mischungsverhältnis von Glycerin und Alkohol und ebenso die Menge des im Ueberschuß zugesetzten basischen Farbstoffes bzw. des Gesamtfarbstoffes überhaupt ein wenig modifizieren können.

Kommt es auf die besondere Färbung bestimmter Blut- und Parasitengebilde an, die sich nur in alkalischen Farblösungen färben, z. B. die Maurerschens¹⁾ Perniciosaflecken, die Kapseln der Halbmonde u. a. m., so setzt man in einfachster Weise zu 10 ccm dest. Wasser, bevor man es mit dem Farbstoff mischt, 1 bis 2 Tropfen einer 1-proz. Kaliumkarbonatlösung. Je nach der Menge der zugesetzten Alkalilösung entstehen die von Maurer ehenda unterschiedenen vier Grade der Romanowsky-Färbung. Der Zusatz anderer Alkalien hat dieselbe oder eine ähnliche Wirkung. Eine Färbung bzw. Härtung mit der unverdünnten Farblösung in Leishmanschem Sinne empfiehlt sich nicht, ebenso wie der von Reuter für die Härtung empfohlene Formalin-Alkohol, der meist sauer reagiert, nur mit Vorsicht zu verwenden ist¹⁾.

Zieht man es vor, die Herstellung der Farblösung selbst vorzunehmen, so sei besonders auf die absolute Reinheit, insbesondere Säurefreiheit der hierfür zu benützenden Lösungsmittel hingewiesen. Der Farbstoff muß unbedingt trocken, gesiebt oder zum mindesten aufs feinste gepulvert sein, soll er sich schnell und völlig lösen. Beim Filtrieren der Lösung bedecke man den Trichter mit einem übergreifenden Urglas, damit die stark hygroskopischen Lösungsmittel kein Wasser aufnehmen und hierdurch nachträglich keine Ausfällung von Farbstoff verursachen.

Ausführung der Färbung.

1) Härtung des lufttrockenen Ausstriches in Aethyl- oder schneller (2—3 Min.) in Methylalkohol. Abtupfen mit Fließpapier.

2) Verdünnung der fertigen Farblösung mit Wasser in einem weiten graduierten Reagierglas unter Schütteln (1 Tropfen der Farblösung auf ca. 1 ccm dest. Wasser), wobei man die Farblösung am besten aus einer Tropfflasche hinaufließen läßt. Vorheriges Anwärmen des Wassers auf 30—40° begünstigt die Färbung.

3) Uebergießen der Präparate mit der frischen verdünnten Lösung. Färbedauer 10—15 Minuten. (Zur Not genügen 5 Min.)

4) Abwaschen in scharfem Wasserstrahl.

5) Abtupfen mit Fließpapier, trocken werden lassen und einbetten in Kanadabalsam.

1) Maurer, G., Die Malaria perniciosa. (D. Z. Bd. XXXII. p. 695.) Ferner: Die Tüpfelung der Wirtszelle des Tertianparasiten. (D. Z. Bd. XXVIII. p. 114.)

Nachdruck verboten.

Zum Nachweis von Tetanusbacillen in Organen des Menschen.

[Aus dem pathologisch-hygienischen Institute der Stadt Chemnitz.]

Von Dr. Creite,

ehemal. Assistenten am Institute, jetzig. Assistenten an der königl. chir. Universitätsklinik Göttingen.

Bei Versuchstieren gehen nach v. Oettingen und Zumpe¹⁾ in fast der Hälfte der Fälle Tetanusbacillen in das Blut und die inneren Organe, besonders in die Milz, seltener in die Leber, die Nieren, das Rückenmark, über.

Beim Menschen wurden Tetanusbacillen zuerst von Nicolaier²⁾ in der Scheide des Ischiadicus und im Rückenmark nachgewiesen.

Buedinger und Schnitzler³⁾ fanden sie in den regionären Lymphdrüsen, Dor in einem kleinen Bluterguß in der grauen Substanz des Gehirns.

Hochsinger⁴⁾, Belfanti und Pescarolo⁵⁾, Hohlbeck⁶⁾ konnten Tetanusbacillen aus dem Blute züchten, das wenige Stunden vor dem Tode einer Vorderarmvene entnommen war.

Andere derartige Fälle habe ich in der Literatur nicht gefunden, es dürfte deshalb der folgende Fall, der eine weitere Lokalisation der Tetanusbacillen im menschlichen Körper zeigt, einiges Interesse bieten.

Der 33-jährige Geschirrführer E. K. wurde am 28. Dez. 1903 von einem Pferde gegen den rechten Ellenbogen geschlagen. Es waren mehrere oberflächliche Hautwunden entstanden, die nach flüchtiger Reinigung mit Wasser und Seife nicht weiter beachtet wurden. Am 4. Tage nach der Verletzung traten Trismus und leichte Krämpfe in den Extremitäten auf, die bis zur Aufnahme in das Krankenhaus am 4. Jan. 1904 langsam an Häufigkeit zunahmen. Er hatte bei den Krämpfen heftige Schmerzen besonders in den Beinen und konnte nur mit Mühe Atem holen. Bei der Aufnahme zeigte der kräftige, gut genährte Mann in der Gegend des rechten Radiusköpfchens eine etwa 2 cm lange schmutzige Hautwunde ohne entzündliche Veränderungen, Trismus, Opisthotonus, häufige tetanische Krämpfe der Muskulatur des Rückens, des rechten Armes und beider Beine. Temperatur normal, Puls 120—132.

Sogleich wird eine Excision der Wundränder und Verschorfung der Wunde mit dem Paquelin vorgenommen, die entstandene Wunde mit Jodoform bepudert und verbunden. Einspritzung von 100 Einheiten Tetanusserum (Behring) in den rechten Arm, Chloralhydrat 3-stdl. 1,0 g. Da die Krämpfe in der folgenden Nacht alle 10 Minuten sich wiederholt haben, starke Schweißausbrüche erfolgt sind und die Temperatur auf 38,9° C angestiegen ist, werden zunächst 10 Uhr vormittags wieder 50 Einheiten Serum injiziert, daneben Chloralhydrat weiter verabreicht, dann nachmittags 3 Uhr, wo auch im linken Arm stärkere Krämpfe auftreten, 3 ccm einer 2-proz. Karbolsäurelösung subkutan gegeben und weiter 1 ccm dieser Lösung alle 2 Stunden. Während am Nachmittag die Krampfanfälle immer noch alle 5—10 Minuten erfolgen, bleiben sie am Abend von 8—10 Uhr ganz weg, treten aber dann wieder sehr heftig auf trotz fortgesetzter Einspritzung von Karbolsäurelösung. Am folgenden Morgen (3. Jan. 1904) früh, also 5 Tage nach Auftreten des Tetanus, Tod unter zunehmender Herzschwäche.

Die von mir nach 31 Stunden ausgeführte Sektion ergab: Hyperämie des Gehirns, punktförmige subepikardiale Blutungen, Herzdilatation, Lungenödem, Bronchitis, punktförmige subpleurale und Magenblutungen, Schwellung der Milz.

1) Ueber den Nachweis von Tetanusbacillen in Organen von Versuchstieren. (Dtsches Arch. f. klin. Med. 1899. p. 478.)

2) Ueber infektiösen Tetanus. (Dtsche med. Wochenschr. 1884. No. 52. p. 842.)

3) Nach v. Oettingen und Zumpe l. c.

4) Centralbl. f. Bakt. etc. 1887.

5) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. IV. Ref.

6) Ein Beitrag zum Vorkommen des Tetanusbacillus außerhalb des Bereiches der Infektionsstelle beim Menschen. (Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 10. p. 172.)

Was zunächst die Untersuchung des intra vitam excidierten Wundrandes betrifft, so wurde die eine Hälfte einem 520 g schweren Meerschweinchen in eine Hauttasche des Rückens gebracht, mit der anderen wurden 2 Nährbouillonröhrchen beschickt, die anaërob (Buchner) bei 37° C gehalten wurden. Das geimpfte Tier zeigt in den nächsten 3 Tagen leichte Krankheitserscheinungen, es frißt nicht, sitzt ruhig in der Ecke des Käfigs, erholt sich aber allmählich wieder und ist bisher völlig gesund geblieben. In den beiden beschickten Röhrchen trübt sich die Nährbouillon schon nach 24 Stunden intensiv und bei der Untersuchung nach 2×24 Stunden zeigen sich in dem einen Röhrchen neben Strepto- und Staphylokokken typische Tetanusbacillen mit Knöpfchensporen neben vereinzelt schon freiliegenden Sporen. Das zweite Röhrchen enthält nur Strepto- und Staphylokokken. Ferner wurde 1 ccm der steril entnommenen klaren Hirnventrikelflüssigkeit einem 532 g schweren Meerschweinchen intraperitoneal eingespritzt. Keine Krankheitserscheinungen.

Endlich wird ein 2 g schweres steril entnommenes Milzstückchen des Toten einem 480 g schweren Meerschweinchen in eine Tasche der Rückenhaut gebracht. Am Abend des 2. Tages nach der Impfung wird das Tier unruhig, springt im Käfig plötzlich auf und macht unter leisem Geschrei einige Schritte vor und zurück. 8 Uhr abends sitzt das Tier meist zusammengekauert, hat den Kopf leicht erhoben und es lassen sich eben angedeutete Krämpfe der Rückenmuskulatur und des rechten Vorderfußes etwa in Zwischenräumen von 10 Minuten wahrnehmen. Am anderen Morgen wird das Tier verendet im Käfig gefunden. Der Kopf ist nach hinten abgelenkt, die Wirbelsäule leicht opisthotonisch eingezogen, die Beine starr vom Körper fortgestreckt, die Zehen gespreizt. Die inneren Organe weisen bei der Sektion keine Veränderungen auf. Die Impfstelle, an der keinerlei Reste des verimpften Milzstückchens mehr nachzuweisen sind, zeigt einen gleichmäßig schmutzig graurötlichen, intensiv stinkenden Belag.

Von ihm werden einmal 3 Deckglastrockenpräparate hergestellt, dann 3 Buchnersche Nährbouillonröhrchen geimpft, die mit Karbol-fuchsin gefärbten Deckglaspräparate zeigen neben Kokken und zahlreichen Bakterien typische Tetanusbacillen mit Sporen.

Nach 48 Stunden ist die Nährbouillon in den Buchnerschen Röhrchen stark getrübt, zeigt einen geringen, ziemlich fest zusammenhängenden Bodensatz und die Kulturen verbreiten bei Lüftung des Wassertopfs einen intensiven widerlichen, an verbranntes Horn erinnernden Geruch. Die mikroskopische Untersuchung ergibt in allen 3 Röhrchen typische Tetanusbacillen mit Knöpfchensporen neben Strepto- und Staphylokokken. Eine Reinzüchtung der Tetanusbacillen mittels des von Kitasato angegebenen Verfahrens mißlang, ebenso fielen alle weiteren Tierimpfungen mit dem bacillenhaltigen Materiale negativ aus.

Vermittelst der Tierimpfung ist es also gelungen, in der Milz eines an Tetanus Verstorbenen die Anwesenheit von Tetanusbacillen nachzuweisen.

Es liegt auf der Hand, daß unsere Anschauungen über Pathogenese und Therapie des Tetanus des Menschen, die nur mit einer lokalen Infektion und anschließender Intoxikation zu rechnen pflegen, gewisse Aenderungen erfahren müßten, wenn der Uebertritt von Tetanusbacillen in den Kreislauf und in die Organe ein häufiger eintretendes Ereignis wäre. Die im hiesigen Institute gemachten Erfahrungen sprechen in

Uebereinstimmung mit den bisherigen Erfahrungen eher dafür, daß unser Fall eine Ausnahme darstellt. Die bei 3 weiteren Sektionen von Tetanusleichen angestellten ausgedehnten Kulturversuche und Tierimpfungen mit Hirnventrikelflüssigkeit, mit Milzgewebe, mit Herzblut und mit Knochenmark sind ohne Erfolg geblieben.

Meinem hochverehrten Chef, Herrn Prof. Dr. Nauwerck, sage ich für die Ueberlassung des Materials sowie für die Unterstützung und Ratschläge meinen ergebensten Dank; ferner schulde ich Dank Herrn Chefarzt Hofrat Dr. Reichel für die gütigst erteilte Erlaubnis zur Benutzung der Krankengeschichte.

Nachtrag. Auch 2 weitere Kulturversuche, die ich von Tetanusleichen in der chirurgischen Klinik zu Göttingen mit Milzgewebe und Blut anstellte, ergaben ein negatives Resultat.

Nachdruck verboten.

Einiges zur Technik der bakteriologischen Untersuchungen der Mundhöhle.

[Aus dem städtischen bakteriologischen Laboratorium zu Padua.]

Von Dr. med. **Antonio Bodella.**

Durch die raschen Fortschritte, die die Bakteriologie durch Anwendung der festen Nährböden nach R. Kochs Vorschrift erfahren hat, sind viele Autoren veranlaßt worden, die flüssigen Nährböden ganz bei Seite zu lassen. Man hat sich begnügt, alle diejenigen Bakterien, die auf festen Nährböden nicht zum Wachstum gebracht werden konnten, als unzüchtbar zu bezeichnen, ohne der Ursache weiter nachzuforschen. Daraus ergaben sich folgende drei Hauptübel:

I. daß nach und nach die Bedeutung der Symbiose- und Antagonismusprozesse, welche gerade in den flüssigen Nährböden sich am besten entwickeln, immer weniger ins Auge gefaßt wurde;

II. daß bei verschiedenen Krankheiten mit einem bekannten spezifischen Krankheitserreger die Begleitbakterien, die etwa auf festen Nährböden nicht gediehen, ganz außer Acht gelassen wurden und so der Wert der Mischinfektion keine Berücksichtigung fand;

III. daß manchen Bakterien eine immer größere ätiologische Bedeutung zukam nur deshalb, weil sie leicht gezüchtet werden konnten und die anderen überwucherten und so bei manchen Krankheiten, die mit großer Wahrscheinlichkeit auf Gärungsprozesse, welche von verschiedenen Bakterienarten bedingt, zurückgeführt werden müssen, von den verschiedenen Komponenten nicht Rechenschaft genommen werden konnte.

Wir haben schon bei verschiedenen Gelegenheiten die Aufmerksamkeit auf diese Punkte im allgemeinen zu lenken versucht und was speziell die Mundhöhle anbetrifft, in einer vor ungefähr einem Jahre erschienenen Arbeit¹⁾. In der Tat konnten wir bei unseren Diphtherieuntersuchungen, mit denen wir zwei Jahre lang betraut waren, häufig Gelegenheit haben, zu beobachten, daß von den vielen Bakterien, die im Deckglaspräparat zu sehen waren, nur spärliche in den Kulturen zur Entwicklung kamen. Zuerst ließ ich die Tatsache auf sich beruhen, da ja Miller, Schottelius und verschiedene andere Forscher zum

1) Giornale della Reale Società Italiana d'Igiene 1903. No. 3.

Schluß gekommen waren, daß die meisten Mundbakterien unzuchtbar seien. Der Vergleich aber der Bouillon- mit den Serumkulturen, wie auch die Untersuchung des Kondenswassers der Serum- und Agarkulturen, wobei in dem flüssigen Medium Bakterien zu sehen waren, die man auf dem festen Nährboden nicht entdecken konnte, veranlaßte mich, ausgedehntere Versuche über diesen Gegenstand vorzunehmen.

Unter anderem hatte ich beobachtet, daß in 40 Proz. aller von mir untersuchten Fälle das Rinderblutserum bei 4—6tägigem Aufenthalt im Brutschrank im unteren Teil des Röhrchens verflüssigt wurde. In etwa 6 Proz. der letzteren Fälle wies das Serum eine schwarze Färbung auf. Der Geruch dieser Kulturen erinnerte an jenen, den ich wiederholt bei meinen ausgedehnten Untersuchungen über Anaëroben wahrgenommen hatte. Die schwarze Färbung selbst wies darauf hin, daß es sich um Anaëroben handeln dürfte. In der Tat konnte diese schwarze Färbung auf der Oberfläche von Aerobienkulturen trotz wiederholter Versuche nicht zum Vorschein gebracht werden. Bekanntlich hat auch Bienstock¹⁾ die schwarze Verfärbung der eiweißhaltigen Nährböden als ein wichtiges Merkmal für die Erkennung seines fäulnisserregenden Anaërobenbacillus bezeichnet. Auch die genaue mikroskopische Untersuchung legte die Vermutung nahe, es handle sich bei den genannten Fällen um Bakterienarten, die mit denen von Bienstock verwandt sind²⁾.

Daß es sich lohnte, die Frage der Anwesenheit von Anaërobenbakterien in der Mundhöhle einem eingehenderen Studium zu unterziehen, bewiesen mir mehrere Fälle aus der Literatur. So hat Frosch³⁾ bei seinen Diphtherieuntersuchungen über einen Fall berichtet, der schon bei Lebzeiten durch schwere brandig-jauchige Veränderung des Nasen-Rachenraums sowie durch die ödematöse Schwellung und Infiltration der regio submaxillaris auffiel. Diese Veränderungen ließen sich bei der Obduktion bis in das Bindegewebe des Mediastinums verfolgen. Als mutmaßliche Ursache dieser Veränderungen wurde ein anaërober gasbildender Bacillus gezüchtet, der sich in den erkrankten Teilen reichlich vorfand. Bandisch⁴⁾ erwähnt einen Fall von einem 50jährigen Gärtner, der unter den Erscheinungen einer ausgesprochenen Kieferklemme, welche ihm kaum noch gestattet, den Mund einen Finger breit zu öffnen, erkrankt war. In wenigen Tagen entwickelte sich das Bild des Wundstarrkrampfes. Nach Bandisch war die Infektion darauf zurückzuführen, daß dieser Gärtner „die leidige Angewohnheit hatte, mit einem hölzernen Zahnstocher, den er lose in der Westentasche zu tragen pflegte, in seinen Zähnen herumzubohren“. Ob bei diesen und ähnlichen Fällen immer eine Infektion durch Instrumente oder andere Gegenstände verantwortlich gemacht werden kann, ist für uns sehr fraglich; es scheint

1) Bienstock schreibt: „Ich mache es gewöhnlich so, daß ich dem gewöhnlichen Nähragar etwas Blutserum oder Ascitesflüssigkeit hinzufüge, nach dem Kochen umschüttele und nicht filtriert in die Reagenzgläser fülle und dort nochmals sterilisiere. Das koagulierte Eiweiß setzt sich nach unten ab und der eingimpfte Putreficus findet sogleich das ihm zusagendste Medium. Das Eiweiß färbt sich rasch schwarz; das ist auch ein gutes Unterscheidungsmerkmal von anderen nicht putrifizierenden Anaëroben.“ (Wir fanden indes, daß die schöne schwarze Farbe auch in Anaëroben-Serum- und Bouillonkulturen von Putrificus häufig auftritt.)

2) Bekanntlich glaubte schon Schech (Münch. med. Woch. 1887 No. 13) nachgewiesen zu haben, daß die dunkle Färbung der Lunge, welche im Verlaufe vieler Infektionskrankheiten wahrgenommen wird, nicht bakteriellen Ursprungs sei: die dunkle Farbe wäre vielmehr auf histologische Veränderungen der Lunge zurückzuführen. Uns scheint es wahrscheinlich, daß beide Faktoren hier gemeinschaftlich eine Rolle spielen dürften.

3) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XIII.

4) Berl. klin. Wochenschr. 1898. Zitiert aus P. Ritters Zahn- u. Mundhygiene.

uns vielmehr nicht ausgeschlossen, daß diese pathogenen Anaërobien sich in der Mundhöhle selbst befunden haben.

Diesen Fällen, welche freilich etwas selten sind, müssen häufigere Mundkrankheiten noch angereiht werden. Will man auch das Noma nicht einem spezifischen anaëroben Mikroorganismus zuschreiben, wie es Matzenauer¹⁾ getan, so sind zweifelsohne anaërobe Mikroorganismen bei diesen Fällen beteiligt, wie wir auch auf Grund unserer Erfahrungen bezeugen können. Ferner gehören auch hieher manche Anginen, so die Angina von Vincent. Eine besondere Rolle spielen die Mundanaërobien aber auch bei denjenigen geringeren Mundentzündungen, welche durch kleine Veränderungen der Schleimhäute einen günstigen Nährboden für die Mikroorganismen bilden, die ihre Gegenwart hauptsächlich durch den üblen Geruch des Mundes kundgeben. In den kariösen Zähnen, den faulen Wurzeln u. s. w. vermehren sich dieselben in ungeheurer Menge. Wir werden bald Gelegenheit haben, auf diesen Gegenstand eingehender zurückzukommen; hier möchten wir uns hauptsächlich mit der Technik der bakteriologischen Munduntersuchungen beschäftigen.

Bekanntlich hat man auch für die Beurteilung der antiseptischen Wirkung verschiedener Mundwässer und Antiseptica das Plattenverfahren angewendet. So hat man z. B. gefunden, daß Borsäure in einer Verdünnung von 1:50 in etwa 11 Minuten den Mund zu sterilisieren im stande ist, Karbolsäure in einer Verdünnung von 1:100 schon in 5 Minuten, Lysol 1:200 ebenfalls in 5 Minuten, Wasserstoffsuperoxyd 2:100 in 6 Minuten. Diese Zahlen haben für uns keine starke Beweiskraft, konnten wir doch beobachten, wie verschiedene Mundbakterien in 3-proz. Essigsäurebouillon sich ganz gut entwickelten, und doch sind diese Bakterien gerade solche, die auf festen Böden nicht gedeihen. Wir haben beispielsweise einen *Bacillus* gefunden, der in 3-proz. Essigsäurebouillon gut und einige Generationen hindurch zu leben im stande ist der wahrscheinlich mit einem identisch ist, der von Johannes Seitz mit dem Namen *Bacillus hastilis* belegt worden ist und von Vincent als *B. fusiformis* beschrieben wurde. Was die Widerstandsfähigkeit der Mundbakterien gegen Alkalien anbetrifft, so ist dieselbe eine außerordentlich große. In auf 120° eine halbe Stunde lang sterilisiertem Eiweiß ist bei Hinzufügung von einer 10-proz. Natronlösung und einer Mundspülung, mit viel Material aus dem Zahnbelag, zu gleichen Teilen die Entwicklung von Anaërobien in Gruberschen Röhrchen z. B. eine üppige. Handelt es sich um kariöse Zähne, so ist dieselbe so rasch, daß schon nach 6 bis 8 Tagen eine ausgesprochene Gasentwicklung beobachtet werden kann, welche in Gruberschen Röhrchen sogar einen fingerbreiten Schaum liefert. Im Laufe der Zeit gewahrt man in vielen Fällen die Bildung von schwärzlichen Punkten, hauptsächlich im unteren Teile des Röhrchens. Das Eiweiß wird manchmal in 2—3 Tagen stark verflüssigt, oft bleibt es bis zu 3 Wochen beinahe ganz unverändert oder nimmt ein gallertartiges Aussehen an.

Die Isolierung der Anaërobien kann hauptsächlich in den Fällen, wo das Eiweiß stark verändert ist, 3—4 Tage nach der Impfung vorgenommen werden. Gewöhnlich tut man am besten, wenn man die Röhrchen 5—8 Wochen lang im Brutschrank läßt und nachher die Isolierung vornimmt. Man wird vielleicht den Einwand erheben, daß ich mit der Anaërobentechnik nicht die Verhältnisse, wie sie in der Natur gegeben sind, nachahme, da ja der Mund immer in Berührung mit der atmosphärischen Luft komme und deshalb anaërobe Verhältnisse aus-

1) Archiv f. Dermat. u. Syph. 1899 u. 1901.

geschlossen seien. Die Möglichkeit von anaëroben Bedingungen scheint auch dem bedeutendsten Forscher auf diesem Gebiet, Röse, entgangen zu sein, welcher schreibt¹⁾: „Die Mundhöhle gleicht einer offen daliegenden Petrischale, auf deren Nährboden sich gelegentlich alle möglichen Spaltpilze ansiedeln können.“ Die einseitige Definition, die in dem Vergleich des Mundes mit einer Petrischale liegt, wird allerdings durch die Beifügung verbessert, daß sich „alle möglichen“ Spaltpilze in derselben entwickeln können. Uebrigens braucht man nur aus einem kariösen Zahn mit einem kleinen Platinspatel etwas Material herauszunehmen und dasselbe nach beiden hier angegebenen Methoden auf Anaëroben zu untersuchen, um ohne weiteres von der Bedeutung dieser Lebewesen überzeugt zu werden. — Ueber die experimentellen Untersuchungen, die ich mit Mundanaëroben angestellt habe, werde ich an anderem Orte eingehend berichten.

Es ist eine altbekannte Tatsache, daß Säuren und Zucker einen Einfluß auf die Zähne auszuüben im stande sind. Man hat mit Recht angenommen, daß die Säuren den Schmelz zerstören und durch Erweichen der Zahnmasse den Bakterien den Weg in das Innere des Zahnes öffnen und auf diese Weise die Karies schaffen. Der Zucker schadet im Munde durch Gärungsprozesse und Säureproduktion. Man darf aber die Wirkung der zwei obengenannten Substanzen insofern erweitern und präzisieren, daß die Säuren auch die unschädlichen Spaltpilze unterdrücken und damit eine Ueberwucherung der für die Zähne schädlichen Bakterien ermöglichen und daß der Zucker neben der oben erwähnten Wirkung auch einen ausgezeichneten Nährboden für das Wachstum der anaëroben Bakterien abgibt.

Ich möchte diese kleine Notiz nicht schließen, ohne auch hier das praktische Ergebnis zu erwähnen, daß ich an anderer Stelle näher behandeln werde. Während der Wasserstoffsperoxyd bis jetzt unter den Antiseptica nicht den ersten Platz einnahm, weil seine bakterizide Kraft nur aus der Zahl der getöteten Aerobienbakterien bemessen wurde, sind wir auf Grund unserer Untersuchungen zur Ueberzeugung gekommen, daß er gegen Karies das vorzüglichste Mittel darstellt, indem derselbe gegen die bei diesen Prozessen wichtigen Anaërobiebakterien die größte bakterizide Kraft entfaltet. Diese Ueberzeugung stützt sich nicht nur auf die theoretische Folgerung von den Resultaten meiner Untersuchung über die Krankheitserreger bei der Zahnkaries, sondern auch auf die Erfahrungen, die ich bei mir selbst und bei anderen, denen ich das Mittel empfahl, gemacht habe.

Nachdruck verboten.

Acetylene as a gas for bacteriological laboratories²⁾.

By Chas. H. Higgins, B.S., D.V.S.,

Pathologist, Department of Agriculture, Dominion of Canada, Ottawa, Canada.

The application of acetylene to general use in bacteriological laboratories was first mentioned by the writer in 1900³⁾, after the successful

1) Röse, Untersuchungen über Mundhygiene. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI.)

2) This article is a portion of the official report to the Department of Agriculture as its Pathologist.

3) Higgins, Chas. H., Annual report to the Minister of Agriculture, Dominion of Canada. 1900. p. 39.

installation of a plant in connection with the Bio-Chemic Laboratory of the William Head Public Health Quarantine Station, Victoria, B.C., which plant is still in use and is giving perfect satisfaction.

In the equipment of the present Biological Laboratory of the Department of Agriculture, the question of gas supply necessitated the installation of an apparatus which would serve for all laboratory purposes and give at all times plenty of gas with which the various heating and lighting operations could be conducted with facility. From the experience at the above mentioned quarantine station, and from subsequent experiments conducted by the writer, there was no hesitation in selecting acetylene as the gas which would, to the best advantage, fulfil the requirements of this institution. Since the first charging of the machine on December 15th, 1902, there has been little or no difficulty experienced with one possible exception, viz: the carbonization of the burners used under the various constant temperature appliances. This difficulty is now solved through the invention of special "turn down" burners which have during the past six months given perfect satisfaction.

Generators for the production of acetylene gas have greatly improved since the appearance of a former article in this Journal¹⁾ by the writer, and the immersion type of machine is adopted almost exclusively by all of the manufacturers. The types of machines which mechanically feed a quantity of water to the carbide and those which brought the carbide and water in contact through a change in the level of either have been practically discarded owing to the difficulty experienced in so designing them that they fulfil the requirements of the insurance underwriters. I fully agree with the experts on acetylene lighting that the only safe acetylene generators for any purpose are those of the immersion type where the gas is generated from the carbide in a large body of water. In these it is usual to allow eight parts of water to one part of carbide by weight, basing the calculation upon the total amount of carbide which may be supplied the machine at one time. This effectually guards against over-heating, either of the gas during generation or of the machine itself.

When placing the acetylene plant in the Bio-Chemic Laboratory of the William Head Public Health Quarantine Station, it was necessary to remodel the machine that the gas could be held under sufficient pressure to operate the Bunsen burners then manufactured, which required a pressure sufficient to raise a column of water four inches. At the present time Bunsen burners and "hot plates" are placed on the market by a number of manufacturers which may be manipulated with greater satisfaction at the ordinary lighting pressure (two and one half inches) than did the burners mentioned, with their special high pressure.

In this laboratory the connections for lighting and heating are the same, it not being necessary to have an increased pressure for any purpose.

The burners used for heating the various incubators and constant temperature appliances are of the "turn down" lighting pattern which have the advantage of not carbonizing when used on a less consumption of gas than their rating. These burners are manufactured under special patents controlled by various acetylene burner manufacturers and all are of very nearly equal merit. The ordinary lighting tips have been found to work well in some instances, but for every burner that will give

1) Higgins, C. H., Acetylene gas and its adaptability for use in isolated bacteriological laboratories. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIX. 1901. No. 20. p. 794.)

satisfactory results, a dozen may be tried which will carbonize in a few days.

It is also necessary to have the adjustment of the gas regulators perfect, owing to the small amount of this gas required as compared with ordinary city or coal gas, it requiring but about one sixth the amount of acetylene to produce the same effect. To obtain this adjustment it has been found necessary to re-draw some of the glass work on the improved Reichert regulator, that the gas supply may be reduced and also that the mercury seal may be accurately closed through the change of temperature. After the necessary changes have been made in the regulator it is possible to keep the incubators within half a degree at all times, provided however, the temperature in the room where the incubator stands does not reach extremes which the burner used cannot compass. The affinity of acetylene to mercury has lead to no difficulty in these regulators, a number of which have been in constant use for over a year.

It appeared at one time that the presence of phosphorous in the carbide, giving phosphoreted hydrogen at the burners was going to cause considerable trouble, but after taking some of the pieces of apparatus apart, it has been found that a deposit only is formed on the copper, which ceases after a time leaving the metal much thicker and heavier.

In using this gas it is essential that it be supplied to the burners perfectly dry. A provision to accomplish this end is made by most of the generator manufacturers at the present time, consisting of a cylinder filled with carbide added to the main supply pipe just as it leaves the machine, with removable portholes for cleaning and recharging. The gas in passing over this carbide is deprived of any moisture which may pass the various scrubbers in the body of the machine. Further than this drying I do not consider it essential to have purifiers that will ensure a supply of chemically pure gas at the burners.

An acetylene installation is without doubt the best that can be made for general laboratory uses, supplying as it does a gas which is suited for the various heating and lighting operations required in an up-to-date bacteriological, pathological or chemical laboratory. At all times there is an even pressure maintained which can be had only with an independent acetylene plant. This even pressure is absolutely necessary as anyone experienced in laboratory work realizes, for the accurate running of incubators and other constant temperature appliances. For isolated laboratories it is the gas "par excellence" owing to the fact that it can be installed at a nominal cost and gives all the conveniences of the best city laboratory.

In selecting a machine, it should ever be borne in mind that the machines not approved by the insurance underwriters are to be looked upon with suspicion and a careful study of the mechanism will usually indicate its defects, even to the uninitiated.

Since preparing the foregoing, a new method of installing an acetylene plant has been brought to my notice, deserving of mention on account of the simplicity and ease with which it is manipulated. It consists in the receipt from the manufactory, not the carbide, but the gas itself in frozen form. At the laboratory or building in which the gas is used there is a storage tank fitted with safety valve, reducing valve and gauge together with the various connections necessary for

attacheant to the container of the frozen gas. By the simple turning of the valve, your supply tank is replenished without the necessity of charging a machine or of dealing in any way with the sludge from such an apparatus, all this having been done at the factory. The cost is but slightly higher than for gas manufactured direct from the carbide in a suitable machine, being only the actual additional expense above that of the carbide, for the labor required in freezing.

The supply tank in which the gas is held under pressure after thawing is placed outside of the building and may be left unprotected from the elements; acetylene gas not being affected by wide ranges in temperature, although it is generally considered advisable to sink it just beneath the surface of the ground.

With this method of installation the danger is less than where the generator system is used, there being no complicated mechanism requiring constant attention and periodical cleaning out. The frozen acetylene is supplied in tanks 12 by 18 inches lagged with material which is a poor heat conductor. As a precaution it is fitted with a safety valve and fusible plug which obviates any danger in transportation. Such a tank will contain about 1000 cubic feet of gas.

This system has one drawback in not being applicable to institutions remote from the supply base as the frozen acetylene cannot be economically shipped further than one thousand miles.

Inhalt.

Bachmann, Ernst, Beitrag zur Kenntnis des Bacillus des malignen Oedems, p. 221.
Bail, Oskar, Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität, p. 270.
Bertarelli, E., Ueber die Wege, auf denen das Wutvirus zu den Speicheldrüsen des Hundes gelangt, p. 213.
Bosc, F. J., Les maladies bryocytiques (maladies à protozoaires). II. [Schluß.], p. 195.
Carini, A., Kuhpockenlymphe und Tuberkulose, p. 261.
Creite, Zum Nachweis von Tetanusbacillen in Organen des Menschen, p. 312.
Ducháček, F., Neue biologisch-chemische Untersuchungen über den Bacillus typhi abdominalis und Bacterium coli commune, p. 161.
Giemsa, G., Eine Vereinfachung und Vervollkommnung meiner Methylenazur-Methylenblau-Eosin-Färbemethode zur Erzielung der Romanowsky-Nochtschen Chromatinfärbung, p. 308.
Higgins, Chas. H., Acetylene as a gas for bacteriological laboratories, p. 317.
Hinterberger, A. u. Reitmann, C., Verschiedenes Wachstum des Bacillus pyocyaneus auf Nähragar je nach dessen Wassergehalt, p. 169.
Lingard, Alfred, Resistance against Rinderpest and other infectious diseases conferred by the subcutaneous injection of certain bile products and also by the

injection of substances prepared from animal testes and the seeds of plants, p. 246.

Loeb, Leo, Ueber das endemische Vorkommen des Krebses beim Tiere, p. 235.

Lüdke, H., Beiträge zur Hämolyse, p. 288.

Ottolenghi, D., Entgegnung auf einige Bemerkungen von Dr. A. Grimme und Dr. V. Růžicka meinen Artikel „Ueber die feine Struktur des Milzbrandbacillus“ betreffend, p. 194.

Oestern, Karl, Beitrag zur Kenntnis der Bakterienflora der erweichten tuberkulösen Herde des Rindes, p. 178.

Fröscher, Die Gewinnung von Antistaphylokokkenserum, p. 295.

Rodella, Antonio, Einiges zur Technik der bakteriologischen Untersuchungen der Mundhöhle, p. 314.

Russ, Victor, Zur Frage der Bakterizidie durch Alkohol. [Schluß.], p. 280.

Sachs, Hans, Ueber die Bedeutung des Danyz-Dungernschen Kriteriums nebst Bemerkungen über Prototoxide, p. 251.

Selter, Ueber Sporenbildung bei Milzbrand und anderen sporenbildenden Bakterien, p. 186.

Stüler, A., Neue Methoden zur Anaërobenkultur und Anaërokultur, p. 298.

Valardo, Francesco, Bakteriologische Untersuchungen über Cervicitis und Endocervicitis bei Schwangerschaft, p. 229.

Zlatogoroff, S. J., Zur Mikrobiologie der Masern, p. 249.

Nachdruck verboten.

Ein eigentümlicher Bacillus, welcher sich schneckenartig bewegende Kolonien bildet (*B. helixoides*).

[Aus dem Institute für Infektionskrankheiten zu Tokio (Direktor: Prof. S. Kitasato).]

Von **T. Muto**, Assistent am Institute.

Mit 1 Tafel.

Ein von mir zufällig gefundener eigentümlicher Bacillus, welcher durch seine noch nicht angegebene, schneckenartig sich bewegende Kolonie charakterisiert ist und dieser Eigentümlichkeit seinen Namen „Bacillus helixoides“, den Herr Direktor Prof. Kitasato diesem Bacillus gegeben hat, verdankt, hat in dem Grade mein Interesse erregt, daß ich es unternommen habe, seine morphologischen und physiologischen Eigenschaften eingehend zu studieren. Daß ein beweglicher Bacillus auf dem Nährboden eine sich bewegende Kolonie bildet, kann man sich wohl vorstellen; aber das ist bisher weder in der Literatur angegeben, noch zu unserer Beobachtung gekommen. Dieser eigentümliche Charakter der Bacillen, eine sich bewegende Kolonie zu bilden, wie ich hier mitteile, erscheint geeignet, in der Physiologie der Mikroorganismen eine neue Kategorie zu bilden. Wenigstens hat mein Studium solcher Bacillen bezüglich ihrer Lebenserscheinungen und Lebensbedingungen neue wichtige Befunde ergeben.

Bacillus helixoides habe ich zufällig aus meinem Speichel isoliert. Er kommt in zwei Formen in einer Kolonie vor. Die Bacillen des peripherischen, sich bewegenden Teiles der Kolonie sind längliche, an beiden Enden abgestumpfte Stäbchen, welche 2,0—4,5 μ Länge und ungefähr 0,64 μ Breite haben. Sie treten meist einzeln oder oft zu 2—3 zusammen auf; seltener bilden sie auch lange Fäden. Dagegen sind die Bacillen des zentralen, stillstehenden Teiles der Kolonie ungefähr nur $\frac{1}{4}$ so lang als die oben genannten; ihre ganze Form gleicht deshalb einer etwas länglichen Kugel. Sie treten meist paarweise auf. *B. helixoides* bildet wahrscheinlich keine Sporen. Er wird durch Erwärmung bei 60° C nach 15 Minuten gänzlich abgetötet. Er ist mit den gewöhnlichen Anilinfarbstoffen leicht zu färben. Gegenüber der Gramschen Methode verhält er sich negativ (Fig. 6).

B. helixoides hat eine ganz lebhafte Bewegung. Dagegen ist es sehr merkwürdig, daß die Bacillen im Kondenswasser des Agars und in Milchkultur sehr klebrig, fadenziehend und unbeweglich sind. Wenn man aber dieser klebrigen Bacillenmasse Kochsalzlösung zusetzt, so zeigen die Bacillen gleich eine lebhafte Bewegung. Sie besitzen 8 bis 10 Geißeln, welche sich nach der gewöhnlichen Methode leicht färben lassen.

Der schneckenartige Bacillus wächst sowohl bei Zimmertemperatur als auch im Brütöfen, aber am besten bei 30° C. Im Eisschrank, bei 7—8° C, bildet er langsamer Kolonien (nach 3—4 Tagen), welche jedoch die eigentümliche Bewegung ebenfalls zeigen. Er gehört zu den fakultativen Aëroben.

In der Agarstickkultur bildet der Bacillus kein Gas; wohl aber hat die Kultur einen eigentümlichen Geruch. Gelatine wird nicht verflüssigt.

Nach der Bewegungsweise der Kolonie unterscheide ich folgende, nämlich:

1) Kolonien mit schneckenartigen Ausläufern (Fig. 1 u. 2). Der Kopfteil dieser Ausläufer kriecht rotierend nach der Peripherie fort und läßt eine schlangenartige, meist leicht gebogene Spur hinter sich. Ihre ganze Form gleicht einer Schnecke.

2) Kolonien mit rankenförmigen Ausläufern, welche mit einem abgestumpften Ende ohne Rotation sich fortbewegen und eine gekrümmte, bandförmige Spur zurücklassen (Fig. 3 u. 4).

3) Wolkenartige Kolonien, welche sich schnell über die ganze Fläche der Platte verbreiten als ein sehr dünner, schwer sichtbarer Schleier, welcher aber mit der Zeit etwas dicker wird. Sie stellen sich auch oft als landkartenartige oder verzweigte Gebilde dar (Fig. 5).

Die Reaktion der Nährböden spielt bei der Bildung der beweglichen Kolonien eine große Rolle. Nach den bisherigen Versuchen ist das Optimum dazu 14—7 Säuregrade bei den Phenolphthaleinreagentien. (Dieser Säuregrad zeigt mit Lackmuspapier eine schwach alkalische Reaktion. Wir drücken den Säuregrad nach den Hataschen [Assistenten am Institute] Angaben folgendermaßen aus: Wenn 1 l Nährboden bei Phenolphthaleinreagentien durch 1 ccm $\frac{1}{10}$ normaler Natronlauge Lösung neutralisiert wird, so nennen wir dies 1 Säuregrad u. s. f.)

Agarplatte: Die tiefliegenden Kolonien sind schwach gelblich und homogen; sie haben eine rundliche, bikonvexe Form. Nach einigen Tagen nehmen sie allmählich eine bräunliche Farbe an. Die der Oberfläche der Platte naheliegenden Kolonien wachsen oben durch und schicken dann die schneckenartigen oder rankenförmigen Ausläufer heraus. Die Strichkultur auf der Agarplatte ist zur Beobachtung der sich bewegenden Kolonien am besten geeignet; in solcher Kultur sieht man alle möglichen Kolonien wachsen.

Zuckeragarstichkultur: Wachstum an der Stichlinie, dicke Beläge auf der Oberfläche. Keine Gasbildung.

Gelatineplattenkultur: Ungefähr wie bei Agarplattenkultur. Hier verdient nur bemerkt zu werden, daß die tiefliegenden Kolonien ganz unregelmäßige Formen haben und wie die der Schimmelpilze aussehen.

Kartoffel: Auf den mit Sodalösung neutralisierten Kartoffeln bildet der Bacillus ganz dünne, gelbbraunliche Kolonien.

Kartoffelagar-Plattenkultur: Auf dieser Platte wächst der B. helixoides am üppigsten unter allen geprüften Nährböden. Da aber das Wachstum zu energisch ist, ist dieser Nährboden doch nicht geeignet, das typische Wachstum der Kolonien zu untersuchen.

Serumkultur: Nur schwaches Wachstum. Keine Peptonisierung.

Bouillonkultur: Das Wachstum ist überhaupt sehr schlecht. Man sieht ferner eine ganz unerwartete Eigentümlichkeit. Die Bouillon wird nämlich gar nicht getrübt und bleibt ganz klar, ein eigentümliches, ganz entgegengesetztes Verhalten zu den anderen beweglichen Bakterien. Der Bacillus bleibt am Boden des Röhrchens als eine schleimige Masse, die auch durch starkes Schütteln sehr schwer zu zerteilen ist. In alten Kulturen bleiben die Bacillen fest an der Wand des Röhrchens haften. In Bouillon mit einem höheren Gehalt an Kochsalz bildet der Bacillus mehrere kleine Kugeln am Boden des Röhrchens. Indolreaktion ist nicht nachgewiesen.

In Peptonwasser ist das Wachstum schlechter als in Bouillon.

In Milch wachsen die Bacillen sehr schlecht. Die Milch bleibt dabei unverändert.

B. helixoides ist für Mäuse, Kaninchen, Ratten, Meerschweinchen, Hunde und Tauben nicht pathogen.

Im Folgenden werde ich auf die genauere Schilderung der eigentümlichen Kolonien des *B. helixoides* eingehen:

1) Die schneckenartige Kolonie: Von den Ausläufern dieser Kolonien ist der schwach gelbliche, rundliche Kopfteil und die durchscheinende Spur zu unterscheiden. Die ganze Form der Ausläufer gleicht nämlich einer kriechenden Schnecke. Der Kopf hat eine Größe von 1–3 mm Durchmesser. Die Länge der Spuren ist sehr verschieden; auf einer Plattenkultur habe ich oft Spuren von 3 cm Länge gesehen. Wie schon erwähnt wurde, bewegt sich der Kopfteil, um seine Längsachse rotierend, vorwärts. Die Richtung dieser Bewegung ist mehr geradlinig. Die Rotationsphase eines Ausläufers wird immer beibehalten. Die Spuren werden sehr oft von mehreren Tochterausläufern besetzt, deren Rotationsphase aber mit der des Mutterausläufers nicht übereinstimmen braucht (Fig. 1 u. 2).

2) Die rankenförmige Kolonie: Die Ausläufer dieser Kolonien sind verschiedengestaltig, bald mückenlarvenähnlich, bald halbmond- oder rankenförmig. Der Kopf hat eine Größe von 0,1–0,2 mm Durchmesser. Er ist anfangs farblos und fast durchscheinend, später wird er leicht gelblich und stark lichtbrechend. Der Kopf und die ganze Länge der Spuren behält immer eine und dieselbe Dicke bei. In den Spuren treten oft Tochterausläufer auf, welche sich mit dem Mutterausläufer zusammen in einer Richtung fortbewegen. Das Ende der Ausläufer krümmt sich ranken- oder schraubenförmig; und dann bleibt das Wachstum stehen. Es giebt auch solche Ausläufer, welche sich von der schneckenartigen Form zu der rankenartigen umwandeln und umgekehrt. Die rankenförmigen Ausläufer bewegen sich ohne Rotation fort. Die Richtung des Wachstums ist nicht so regelmäßig wie bei den schneckenartigen Ausläufern; bald rechts oder links krümmen sie sich bogenförmig, bald bilden sie Ringe oder Schrauben (Fig. 3 u. 4).

3) Die wolkenartige Kolonie: Sie ist eine ganz dünne, diffus sich verbreitende und kaum sichtbare Kolonie. Von der Peripherie gehen einige mehr oder weniger lichtbrechende Ausstülpungen hervor, welche bald forzuwachsen aufhören und deshalb nur ganz kurze Spuren zurücklassen. Bald darauf verschwindet der Kopf dieser Ausstülpungen. Sie wandeln sich selten zu schnecken- oder rankenartigen Ausläufern um und laufen in und außer der Mutterkolonie durcheinander. Die stark gewachsenen Kolonien nehmen die ganze Fläche der Agarplatte ein und zeigen das Bild von mächtigen Wogen und Wirbeln (Fig. 5).

Die drei oben erwähnten Typen der Kolonien können natürlich in einander übergehen. Diese Tatsache läßt sich wohl so erklären, daß die rankenförmigen Ausläufer nichts anderes sind, als stark gebogene, schneckenartige, und daß die letzteren als die fortdauernd laufenden Vorstülpungen der wolkenartigen Kolonien anzusehen sind. Trotz dieser Umwandlung untereinander erscheint doch eine gewisse Regel vorhanden zu sein; z. B. in der Strichkultur auf Kartoffelagarplatte wachsen zuerst wolkenartige Kolonien, von der dann schneckenartige Ausläufer ausgehen, welche sich schließlich rankenförmig krümmen.

Wachstumsgeschwindigkeit der Ausläufer der Kolonie. Da die schneckenartigen Kolonien sich rotierend fortbewegen, so ist ihr Wachstum relativ langsam. Dagegen wachsen die rankenförmigen Kolonien mit einer großen Geschwindigkeit, so daß es, wie ich einmal beobachten konnte, zum Wachstum von 3 mm Länge nur 30 Minuten bedarf. Da nämlich die Geschwindigkeit des Wachstums 1 mm pro 10 Minuten ist, so kann man das Heranwachsen der Kolonien unter dem Mikroskop mit der schwachen Vergrößerung leicht verfolgen. Aber ein solches Bild sieht man nur bei den jungen Kolonien; die älteren wachsen im allgemeinen langsamer. Die Wachstumsgeschwindigkeit der Ausstülpungen der wolkenartigen Kolonien ist ungefähr so groß wie die der schneckenartigen Kolonien.

Die ganze Länge der Ausläufer erreicht bei den schneckenartigen Kolonien oft 3 cm, während sie bei den wolkenartigen Ausstülpungen nur 0,1—0,4 cm beträgt. Bei den rankenförmigen Kolonien habe ich einmal beobachtet, daß der Kopf von 0,15 mm Durchmesser schon eine 2 cm lange Spur zurückließ und noch immer weiter wuchs. Die Ausläufer können also 140mal länger wie der Durchmesser sein.

Die Anordnungen und die Bewegungen der Bakterien in der Kolonie. Es ist ein sehr interessantes, reizendes Bild, die sich fortbewegenden Kolonien unter dem Mikroskop mit der mittelstarken Vergrößerung zu betrachten. In den schneckenartigen Kolonien sind die Bacillen spiralförmig angeordnet. Der Führer der Bacillentruppe geht in der Mitte des Kopfes des Ausläufers voran, und die anderen Bacillen folgen ihm sämtlich nach. Solche Bakterien, welche wahrscheinlich in Degeneration begriffen sind und die Bewegungen verloren haben, bleiben von der vorrückenden Truppe zurück und bilden die Spur. Im Kopfteil der rankenförmigen Ausläufer sind die sämtlichen Bacillen ihrer Länge nach in der Bewegungsrichtung angeordnet, während nur 1—2 äußere Schichten Bacillen die quere Lage nehmen. Wenn man sich vorstellt, daß die Bacillen sich nur nach der Richtung ihrer Längsachse fortbewegen können, so müssen sie die äußere querliegende Bacillenschicht mit einer nicht unbedeutenden Kraft fortschieben oder wenigstens dieselbe auseinander drängen. Wenn das letztere der Fall ist, so ist wohl anzunehmen, daß die seitlichen Bacillenwälle der Spuren diejenigen gewesen wären, die die äußeren Schichten des Kopfes bildeten.

In den stark lichtbrechenden Vorstülpungen der wolkenartigen Kolonien zeigen die Bacillen eine spiralförmige Anordnung wie bei den schneckenartigen Kolonien. In den anderen Teilen dieser Kolonien sind sie nur unregelmäßig und spärlich zerstreut. Es gibt auch solche Kolonien, die von einem dichten, wellenartig sich bewegenden Bacillenhaufen besetzt sind.

Die Bewegungen der Bacillen, die ich hier geschildert habe, sind nur die einfachen. Viele Variationen und Komplikationen von ihnen können entstehen, wenn z. B. zwei Ausläufer oder mehrere Bacillengruppen in einer Kolonie zusammentreffen oder wenn in einem Ausläufer mehrere Tochterausläufer entstehen.

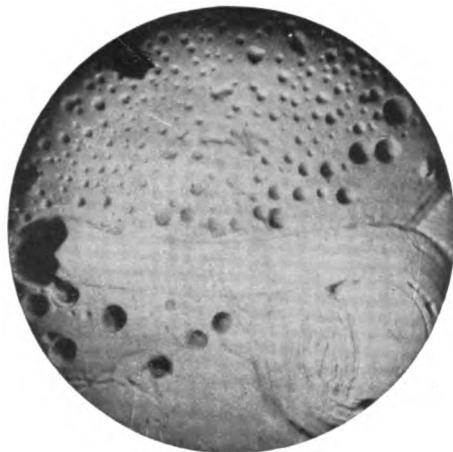
Wenn man die Bewegungen der Bacillen in der Kolonie genau betrachtet, so wird man wohl gezwungen, anzunehmen, daß die Bacillen eine Flüssigkeit produzieren müssen, die ihre Bewegungen resp. die Funktion der Geißeln ermöglichen. Dafür spricht der Umstand, daß



1



2



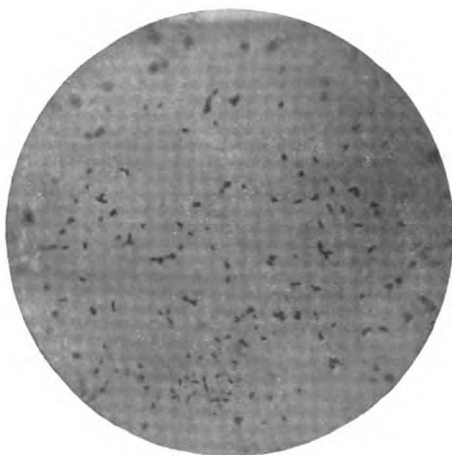
3



4



5



6

die Bacillen trotz ihrer lebhaften Bewegung nicht über die Grenze der Kolonie hinauslaufen.

Physikalische und chemische Einflüsse auf die Bewegung der Kolonie. Wenn man in der Platte vor dem sich fortbewegenden Ausläufer mit der Platinnadel einen Riß macht und dann die Stelle unter dem Mikroskop betrachtet, so sieht man ein reizendes Bild von Bacillenbewegungen. Die Bacillengruppe, die sich nur blind vorwärts fortbewegt, fällt in das Tal, wie ein Oeltropfen, langsam herab; und nun entsteht eine lebhafte, schwärmende Bewegung unter den Bacillen. Aber die Bacillen im hinteren Teil des Ausläufers geben, während der vordere Teil in das Tal hineingestürzt ist, die bisherige gemeinschaftliche Bewegung auf und schlagen eine andere Richtung ein. Auch diejenigen, die eben bis zum Rande des Tales gelangt waren, lenken plötzlich von der Bewegungsrichtung ab, als ob sie Vernunft besäßen, um nicht ins Tal hineinfallen. Der Einfluß der Farbstoffe auf das Wachstum der Ausläufer ist auch nicht weniger interessant. Wenn man 1 Tropfen wässrige Gentianaviolettlösung auf die Platte tut, und wenn der sich bewegende Ausläufer diesen Farbstofftropfen berührt, so wird der Umriß desselben violett gefärbt, und die Bewegung wird allmählich langsamer. Endlich krümmt sich die Spitze des Ausläufers und bildet einen Wirbel. Dieser Wirbel, dessen beide Seiten violett gefärbt sind, stellt unter dem Mikroskop ein schönes Bild dar.

Man erwärmt den Deckel der Schale auf der Flamme und läßt das darauf kondensierte Wasser abdampfen. Sobald der Wasserstoff die Kolonien berührt, tritt eine schwärmende Bewegung unter den stillgebliebenen Bacillen auf. Diese Bewegung, welche nur eine kurze Zeit dauert, geht dann in die gewöhnliche über; die Bacillen sammeln sich an der Peripherie der Kolonie und treiben mehrere Ausläufer aus.

Wenn zwei Ausläufer sich treffen, so fließen sie, wie ich beobachtet habe, niemals zusammen. Der kleinere von ihnen weicht vor dem größeren aus und nimmt eine andere Bewegungsrichtung. Deshalb behält der Ausläufer immer eine und dieselbe Dicke bei.

Ich glaube kaum, daß mit dem oben Angegebenen die physiologischen Erscheinungen dieses interessanten *Bacillus* vollständig geschildert sind. Dagegen ist es sehr möglich, daß durch weitere Erforschung dieses *Bacillus* oder der anderen zu dieser Gruppe gehörigen Bacillen noch andere interessante Eigenschaften zu Tage gebracht werden können.

Zum Schluß erfülle ich eine angenehme Pflicht, Herrn Direktor Prof. Kitasato für die wertvolle Anregung, sowie den Herren Dr. Kitashima, Dr. Hata und Dr. Miyashima für ihre vielfachen Unterstützungen bei dieser Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

August 1903.

Tafelerklärung.

- Fig. 1. Schneckenartige Kolonie, Vergrößerung 9fach.
- Fig. 2. Dieselbe, Vergrößerung 1fach.
- Fig. 3. Rankenförmige Kolonie, Vergrößerung 9fach.
- Fig. 4. Dieselbe, Vergrößerung 3fach.
- Fig. 5. Wolkenartige Kolonie, Vergrößerung 1fach.
- Fig. 6. *B. helixoides*, Klatschpräparat, Vergrößerung 600fach.

Nachdruck verboten.

Neue biologisch-chemische Untersuchungen über den *Bacillus typhi abdominalis* und *Bacterium coli commune*.

Von Prof. Dr. F. Ducháček in Proßnitz (Oesterreich)

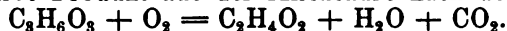
Mit 1 Figur.

(Schluß.)

Diese in der reinen Luftatmosphäre angestellten Versuche beweisen zur Genüge, daß das *Bacterium coli* in gleicher Zeit größere Mengen Glukose zu zersetzen vermag als der *Bacillus typhi*. Beide Mikroben vermögen gewiß, wie andere Milchsäurefermente, Zucker unmittelbar in Milch- und Essigsäure nach der folgenden Gleichung zu spalten:



Mit dem Alter der Kultur ist beim Typhusbacillus eine gleichmäßige Zunahme beider Säuren wahrzunehmen, dagegen ist beim Colibacillus nur die Menge an Essigsäure im Wachsen begriffen; d. h. beim Colibacillus hört entweder nach längerer Zeit die Entwicklung der Milchsäure auf und aus dem Zucker bildet sich nur die Essigsäure oder aber es entwickelt sich diese bei genügender Luftzufuhr als ein sekundäres Produkt aus der Milchsäure nach der Gleichung:



Diese Vermutung scheinen auch die in der Wasserstoffatmosphäre angestellten Versuche zu bestätigen.

Setzen wir in den angeführten Versuchen die Menge der zersetzten Glukose gleich 100, so erhalten wir für die Milch- und Essigsäure nachfolgende Werte:

		Milchsäure	Essigsäure
B. coli	Versuch No. 2	30,89	27,74
" "	" " 4	18,25	35,68
B. typhi	" " 3	46,29	19,67
" "	" " 5	42,40	17,30

Der Typhusbacillus erzeugt daher aus Glukose verhältnismäßig mehr Milchsäure und weniger Essigsäure als der Colibacillus.

3. Geimpfte Versuche in Wasserstoffatmosphäre.

a) Versuchsdauer: 11 Tage.

	Versuch No. 7 <i>Bacterium coli</i>	Versuch No. 8 <i>Bacillus typhi</i>
Geimpft mit		
Glukose vorhanden in g	2,633	3,797
darin enthaltene Sauerstoffmenge in g	1,403	2,024
Glukose vergoren in g	1,987	0,823
darin enthaltene Sauerstoffmenge in g	1,059	0,438
Glukose vergoren in Proz.	43,009	17,814
Milchsäure vorhanden in g	0,819	0,320
darin enthaltene Sauerstoffmenge in g	0,436	0,171
d. h. Milchsäure in der Lösung in Proz.	0,164	0,064
Essigsäure vorhanden in g	0,322	0,203
darin enthaltene Sauerstoffmenge in g	0,172	0,108
d. h. Essigsäure in der Lösung in Proz.	0,064	0,041
Kohlendioxid gefunden in g	0,824	0,015
darin enthaltene Sauerstoffmenge in g	0,599	0,011
gefundene Sauerstoffmenge im ganzen in g	1,207	0,290
dieselbe abgezogen von der in der vergorenen Glukose enthaltenen Sauerstoffmenge gibt in g	— 0,148	+ 0,148

b) Versuchsdauer: 30 Tage.

Geimpft mit	Versuch No. 9 Bacterium coli	Versuch No. 10 Bacillus typhi
Glukose vorhanden in g	1,814	2,831
darin enthaltene Sauerstoffmenge in g	0,967	1,509
Glukose vergoren in g	2,806	1,789
darin enthaltene Sauerstoffmenge in g	1,495	0,953
Glukose vergoren in Proz.	60,736	38,723
Milchsäure vorhanden in g	1,236	1,224
darin enthaltene Sauerstoffmenge in g	0,659	0,652
d. h. Milchsäure in der Lösung in Proz.	0,247	0,245
Essigsäure vorhanden in g	0,628	0,174
darin enthaltene Sauerstoffmenge in g	0,335	0,093
d. h. Essigsäure in der Lösung in Proz.	0,126	0,035
Kohlendioxyd gefunden in g	1,401	0,040
darin enthaltene Sauerstoffmenge in g	1,019	0,029
gefundene Sauerstoffmenge im ganzen in g	2,013	0,774
dieselbe abgezogen von der in der vergorenen Glukose enthaltenen Sauerstoffmenge gibt in g	— 0,518	+ 0,179

Auch in Wasserstoffatmosphäre vermag das *Bacterium coli* die Glukose besser als der *Bacillus typhi* zu zersetzen, aber mit der Gegenwart von Luft sind größere Verluste an Zucker verbunden. Diese Verluste ersetzt das *Bacterium coli* nach längerer Einwirkung hauptsächlich durch Essigsäure bei vollkommener Luftzufuhr, in der Wasserstoffatmosphäre aber durch Milchsäure, zu deren Oxydation ihm die erforderlichen Bedingungen fehlen. Setzen wir wieder die Menge der zersetzten Glukose gleich 100, so erhalten wir:

		Milchsäure	Essigsäure
B. coli	Versuch No. 7	41,21	16,20
" "	" " 9	44,05	22,38
B. typhi	" " 8	38,88	24,67
" "	" " 10	68,42	9,73

Aus diesen Zahlen ersehen wir, daß der *Colibacillus* durch die ganze Dauer hindurch die Milch- sowie die Essigsäure gleichmäßig entwickelt, hingegen der *Typhusbacillus* in der späteren Zeit sich hauptsächlich mit der Milchsäurebildung beschäftigt.

Das *Bacterium coli* hat in der Wasserstoffatmosphäre eine so große Menge organischer Säuren und Kohlendioxyds entwickelt, daß der in ihnen enthaltene Sauerstoff um 0,148 und 0,518 g die Sauerstoffmenge überhöht, die die vergorene Glukose bieten konnte; diese interessante Tatsache beweist zur Genüge, daß das *Bacterium coli* den Sauerstoff dem Nitrate entnahm, welcher auch hier, wie die später angeführten Analysen zeigen werden, am heftigsten attackiert wurde. Auch beim Luftzutritte hat der *Colibacillus* um 0,421 und 0,268 g mehr Sauerstoff verbraucht, als die Glukose allein enthalten hat, aber hier kann man sich nicht mit Sicherheit über den Ursprung des Sauerstoffs aussprechen, indem nebst dem Sauerstoffe des Nitrates dem *Bacterium coli* auch jener der Luft zur Verfügung stand.

Der eine Teil des Kohlendioxyds entsteht durch die Zersetzung der Milchsäure, sein Hauptanteil aber bildet sich neben Wasserstoff direkt aus dem Zucker. Welchem Schicksale die durch *Bacterium coli* attackierte Glukose anheimfällt, entnehmen wir deutlich aus den angestellten Versuchen; was noch außer der Milch- und Essigsäure aus dem Zucker, der durch *Bacillus typhi* zersetzt wird, sich bildet, falls es nicht Kohlendioxyd ist, wissen wir nicht.

Die übrigen Forscher, wie Brieger, Dubief, Cathelineau, Van Ermengem und Van Laër (Trav. du lab. d'hygiène de l'Université de Gand. 1892), Grimbert (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. X. 1896. p. 714. — Compt. rend. de la soc. de biol. 1896. p. 684), Péré (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. VI. 1892. p. 512; T. VII. 1893. p. 637) u. a., welche sich mit dem Studium der Zersetzung der Glukose durch die beiden Mikroben beschäftigten, richteten ihr Augenmerk dahin, auf welche Art die Milchsäure entsteht. Aus den wichtigen Entdeckungen Pérés entnehmen wir, daß neben der Beschaffenheit des Zuckers auch einen großen Einfluß die Beschaffenheit und Menge der stickstoffhaltigen Nährsubstanz auf die Ergebnisse der Versuche ausübt. Nach Oppenheimers Versuchen gibt das *Bacterium coli* neben den Gasen 30 Proz. der nicht flüchtigen und 70 Proz. der flüchtigen Säuren mit etwas Jodoform bietender Substanz.

Die aus den verschiedenen Kohlenhydraten beim Luftabschlusse durch beide Mikroben gebildeten Umsetzungsprodukte unterzog Harden (Chem.-Ztg. Bd. XXV. 1901. p. 353) einem ausführlichen Studium und behauptet, daß der *Colibacillus* die Glukose unter Bildung der Milchsäure vergärt, deren Menge fast der Hälfte des Zuckers entspricht, daß ferner gleiche Mengen Alkohol und Essigsäure gebildet werden, welche $\frac{1}{6}$ des im Zucker vorhandenen Kohlenstoffes entsprechen und daß nur kleine Mengen von Bernstein- und Ameisensäure sich entwickeln; schließlich entweicht Kohlendioxyd in Mengen gleich 12—18 Proz. Zucker und Wasserstoff, dessen Volumen etwas größer ist. *Bacillus typhi* vergärt gleichartig, gibt aber mehr Ameisensäure (17 Proz.) und entwickelt kein Gas.

C. Bestimmung der Stickstoffverbindungen.

Der gesamte Stickstoffgehalt der Nährlösung wurde nach Jodlbauer (Landw. Versuchsstationen. Bd. XXXV. 1888. p. 447) mit Rücksichtnahme auf die Erfahrungen, welche Maquenne und Roux (Bull. soc. chim. T. XXI. 1899. p. 312), Neuberg (Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. Bd. II. 1902. p. 214) und de Paepe und Beaurain (Bull. de l'assoc. Belge des chim. T. XIV. 1900. p. 305) mit dieser Methode gemacht haben, bestimmt; sie legen großen Wert darauf, daß man einen blinden Versuch durchführe, empfehlen die Ueberdestillierung von $\frac{2}{5}$ der Flüssigkeit, damit der ganze Ammoniak in die Vorlage gelange, und die Zugabe von 0,5 g pulverisierten Bimssteines, welcher die Destillation gleichmäßiger gestaltet. Bei dem mit 50 ccm stickstofffreiem Wasser durchgeführten blinden Versuche wurde durch Ammoniak 1,63 ccm dezinormaler Schwefelsäure neutralisiert; dies entspricht 0,002282 g Stickstoff.

Die Analyse des Nährsubstrates wurde nach derselben Anleitung durchgeführt; jedoch wurde das Wasser durch 50 ccm der Lösung ersetzt.

Der Verlust von Stickstoff, welcher beim Abdampfen in der Hofmeisterschen Schale entsteht, wurde in der Weise bestimmt, daß man 50 ccm der Lösung und 3 g Gips im Destillierkolben auf dem Wasserbade bei vermindertem Drucke zur Trockne verdampfte. Die entweichenden Dämpfe wurden in dezinormaler Schwefelsäure aufgefangen. Der Abdampfrückstand wurde in 110 ccm Wasser gelöst und diese Lösung zur Bestimmung der Stickstoffsubstanzen, welche mit Natriumhydroxyd Ammoniak liefern, benutzt.

Es wurde also unter Zugabe von 75 ccm Natriumhydroxyd (spez. Gew. = 1,3) gekocht und der entweichende Ammoniak durch dezinormale Schwefelsäure absorbiert.

Für den blinden Versuch wurde hierdurch 0,00126 g Stickstoff festgestellt.

Nach dem Abkühlen wurde die Lösung im Destillierkolben mittels Wassers auf das ursprüngliche Volumen gebracht und die Bestimmung des Stickstoffes in Form von Nitraten nach Devarda mit Berücksichtigung der Arbeit L. v. Wissels (Journ. f. Landwirtschaft. 1900. p. 105) durchgeführt, welcher diese Methode als die richtigste hält, empfiehlt aber, bei der Destillation die Menge der sämtlichen Reagentien um die Hälfte zu erhöhen als Devarda angibt.

Das Ergebnis des blinden Versuches war: 0,00028 g Stickstoff.

Neben diesen wurden noch folgende qualitative Untersuchungen durchgeführt:

a) Auf Ammoniak mit Nessler'schem Reagens.

b) Auf salpetrige Säure mit Zinkjodidstärkelösung unter Zugabe einmal von Schwefelsäure und das andere Mal von Essigsäure.

c) Auf Salpetersäure bei Abwesenheit der salpetrigen Säure mit Diphenylamin. War die salpetrige Säure vorhanden, so wurde diese zuerst durch das Kochen mit Salzsäure beseitigt und sodann mit Diphenylamin auf Salpetersäure geprüft.

Nachfolgende Ergebnisse habe ich erzielt:

1. Ungeimpfte Versuche.

Versuchsdauer: 11 Tage.

	Versuch No. 1	Versuch No. 6	Mittel
Gesamtstickstoff in g	0,4181	0,4159	0,417
Nitratstickstoff in g	0,3340	0,3320	0,333
Organischer Stickstoff in g	0,0841	0,0839	0,084

2. Geimpfte Versuche in Luftatmosphäre.

a) Versuchsdauer: 11 Tage.

	Versuch No. 2 Bacterium coli	Versuch No. 3 Bacillus typhi
Geimpft mit		
Stickstoff nach Jodlbauer gefunden in g	0,359	0,375
Stickstoffverlust beim Abdampfen zur Trockne in g	0,000	0,002
Gesamtstickstoff vorhanden in g	0,359	0,377
Gesamtstickstoff vergoren in g	0,058	0,040
Gesamtstickstoff vergoren in Proz.	13,909	9,592
Nitratstickstoff gefunden in g	0,278	0,294
Nitratstickstoff vergoren in g	0,065	0,039
Nitratstickstoff vergoren in Proz.	16,516	11,711
Nitratstickstoff abgezogen vom Gesamtstickstoff (d. h. organischer Stickstoff) gibt in g	0,081	0,083
durch Kochen mit NaOH gefundene Stickstoffmenge in g	0,067	0,052
Qualitative Unter- suchungen	<div> Reaktion auf Ammoniak Reaktion auf salpetrige Säure Reaktion auf Salpetersäure </div>	<div> deutlich deutlich sehr stark </div>

b) Versuchsdauer: 30 Tage.

	Versuch No. 4 Bacterium coli	Versuch No. 5 Bacillus typhi
Geimpft mit		
Stickstoff nach Jodlbauer gefunden in g	0,356	0,332
Stickstoffverlust beim Abdampfen zur Trockne in g	0,001	0,003
Gesamtstickstoff vorhanden in g	0,357	0,335
Gesamtstickstoff vergoren in g	0,060	0,082
Gesamtstickstoff vergoren in Proz.	14,388	19,664

	Versuch No. 4 Bacterium coli	Versuch No. 5 Bacillus typhi
Geimpft mit		
Nitratstickstoff gefunden in g	0,265	0,254
Nitratstickstoff vergoren in g	0,068	0,079
Nitratstickstoff vergoren in Proz.	20,420	23,724
Nitratstickstoff abgezogen vom Gesamtstickstoff (d. h. organischer Stickstoff) gibt in g	0,092	0,081
durch Kochen mit NaOH gefundene Stickstoffmenge in g	0,079	0,065
Qualitative Untersuchungen	{ Reaktion auf Ammoniak deutlich Reaktion auf salpetrige Säure deutlich Reaktion auf Salpetersäure sehr stark	{ deutlich deutlich sehr stark

3. Geimpfte Versuche in Wasserstoffatmosphäre.

a) Versuchsdauer: 11 Tage.

	Versuch No. 7 Bacterium coli	Versuch No. 8 Bacillus typhi
Geimpft mit		
Stickstoff nach Jodlbauer gefunden in g	0,207	0,302
Stickstoffverlust beim Abdampfen zur Trockne in g	0,009	0,004
Gesamtstickstoff vorhanden in g	0,216	0,306
Gesamtstickstoff vergoren in g	0,201	0,111
Gesamtstickstoff vergoren in Proz.	48,201	26,619
Nitratstickstoff gefunden in g	0,124	0,303
Nitratstickstoff vergoren in g	0,209	0,030
Nitratstickstoff vergoren in Proz.	62,763	9,009
Nitratstickstoff abgezogen vom Gesamtstickstoff (d. h. organischer Stickstoff) gibt in g	0,092	0,003
durch Kochen mit NaOH gefundene Stickstoffmenge in g	0,105	0,020
Qualitative Untersuchungen	{ Reaktion auf Ammoniak deutlich Reaktion auf salpetrige Säure sehr stark Reaktion auf Salpetersäure schwach	{ deutlich stark stark

b) Versuchsdauer: 30 Tage.

	Versuch No. 9 Bacterium coli	Versuch No. 10 Bacillus typhi
Geimpft mit		
Stickstoff nach Jodlbauer gefunden in g	0,191	0,345
Stickstoffverlust beim Abdampfen zur Trockne in g	0,003	0,009
Gesamtstickstoff vorhanden in g	0,194	0,354
Gesamtstickstoff vergoren in g	0,223	0,063
Gesamtstickstoff vergoren in Proz.	53,477	15,106
Nitratstickstoff gefunden in g	0,092	0,305
Nitratstickstoff vergoren in g	0,241	0,028
Nitratstickstoff vergoren in Proz.	72,372	8,484
Nitratstickstoff abgezogen vom Gesamtstickstoff (d. h. organischer Stickstoff) gibt in g	0,102	0,049
durch Kochen mit NaOH gefundene Stickstoffmenge in g	0,068	0,084
Qualitative Untersuchungen	{ Reaktion auf Ammoniak deutlich Reaktion auf salpetrige Säure sehr stark Reaktion auf Salpetersäure schwach	{ deutlich stark schwach

Außer Zweifel ist, daß beide Mikroben Nitrates in Nitrite zu reduzieren vermögen, welche sodann schwinden; das Reduktionsvermögen des Colibacillus kommt insbesondere in der Wasserstoffatmosphäre anfangs zur Geltung, während welcher Zeit auch die größte Menge Zucker zersetzt wird, wogegen bei steter Luftzufuhr seine Reduktionsfähigkeit schwächer wird und eine rasche, gleichmäßige Abnahme des Zuckers stattfindet. Der Typhusbacillus gibt dagegen keine so markanten Unterschiede kund, es scheint aber, daß für die Reduktion der Nitrates das Vorhandensein von Luft günstiger wirkt als das des

Wasserstoffes. Sonst wiederholt sich auch bei den Nitraten dieselbe Erscheinung, die schon längst bei beiden Mikroben beobachtet wurde, nämlich: Daß das Reduktionsvermögen beim *Bacterium coli* immer im höheren Maße ausgebildet ist als bei dem *Bacillus typhi*.

Auf diesen diagnostischen Unterschied hat schon Dieudonné aufmerksam gemacht; Wolf (Hyg. Rundschau. Bd. IX. 1899. p. 539), Stoklasa (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. II. Bd. VII. 1901. p. 260), Pennington und Küsel (Journ. Amer. chem. soc. 1900. p. 556) behaupten, daß der *Colibacillus* bei bestimmten Umständen nicht nur die Nitrate in Nitrite, sondern auch bis zum elementaren Stickstoff zu zerlegen vermag. Auf welche Art und Weise die Nitrite weiter zerlegt werden, ob sie durch Einflußnahme der organischen, aus dem Zucker sich bildenden Säuren gespalten werden, oder aber ob es sich hier um den wirklichen Denitrifikationsprozeß handelt, wobei die Mikroben selbst bei der alkalischen Reaktion des Nährmediums das Nitrit zerstören, wurde bis jetzt noch nicht mit Sicherheit bewiesen und verbleibt als nächster Gegenstand meiner weiteren Beobachtungen.

Auch das Pepton wird durch beide Mikroben heftig attackiert, jedoch wird sein Stickstoff durch den vitalen Prozeß beider Mikroben aus der Lösung nicht beseitigt, sondern nur in Formen umgewandelt, die durch Kochen mit Natriumhydroxyd Ammoniak liefern.

II. Versuche mit der Weinsäurelösung.

Sechs 3 l-Kolben wurden mit je 500 ccm der Lösung B gefüllt, mit Watte verstopft und während 3 nacheinanderfolgenden Tagen immer durch 2 Stunden sterilisiert. Nach längerer Inkubationszeit wurden 4 Kolben mit Reinkulturen beider Mikroben geimpft; die Kolben No. 11 und No. 12 erhielten Kulturen des *Bacterium coli* und die Kolben No. 13 und No. 14 jene des *Bacillus typhi*, während die Kolben No. 15 und No. 16 ungeimpft verblieben. Sodann wurden alle Kolben im Dunkeln bei 37° Temperatur untergebracht. Nach 5 Tagen wurde zur Analyse der Lösung in den Kolben No. 11, 13, 15 geschritten und nach 30 Tagen erfolgte die Analyse des Inhaltes der Kolben No. 12, 14 und 16.

Analyse des Nährsubstrates.

Nach Beendigung des Versuches wurde wieder der Inhalt eines jeden Kolbens bakteriologisch mit befriedigendem Resultate untersucht.

Die Bestimmung des Gesamtwoinsäuregehaltes wurde nach König (Untersuchungen landwirtschaftlich u. gewerblich wichtiger Stoffe. Berlin 1898. p. 580) in der Weise durchgeführt, daß der mit Alkohol gefällte Weinstein im Gooch'schen Tiegel mit Asbest aufgefangen, nach dem Durchwaschen in siedendem Wasser gelöst und diese Lösung mit $\frac{1}{4}$ n. NaOH titriert wurde.

Aus den verbrauchten Kubikcentimetern des Natriumhydroxyds, welche wir mit a bezeichnen wollen, wurde die Menge der Weinsäure in Grammen, welche in 100 ccm enthalten sind, folgendermaßen berechnet:

$$x = 0,0375 (a + 0,6)$$

Zur Bestimmung der übrigen in der Lösung vorhandenen Stoffe bediente man sich der anfangs schon erwähnten Methoden. Die Resultate der Analyse sind folgende:

1. Ungeimpfte Versuche.

	Versuch No. 15	Versuch No. 16	Mittel
Gesamtmenge der Weinsäure in g	4,976	4,998	4,987
Gesamtstickstoff in g	0,409	0,411	0,410
Nitratstickstoff in g	0,330	0,326	0,328
Organischer Stickstoff in g	0,079	0,085	0,082

2. Geimpfte Versuche.

a) Versuchsdauer: 5 Tage.

	Versuch No. 11 Bacterium coli	Versuch No. 13 Bacillus typhi
Geimpft mit		
Gesamtweinsäure gefunden in g	1,835	0,722
Gesamtweinsäure vergoren in g	3,152	4,265
Gesamtweinsäure vergoren in Proz.	63,204	85,522
Stickstoff nach Jodlbauer gefunden in g	0,344	0,343
Stickstoffverlust beim Abdampfen zur Trockne in g	0,008	0,012
Gesamtstickstoff vorhanden in g	0,352	0,355
Gesamtstickstoff vergoren in g	0,058	0,055
Gesamtstickstoff vergoren in Proz.	14,146	13,415
Nitratstickstoff gefunden in g	0,264	0,281
Nitratstickstoff vergoren in g	0,064	0,047
Nitratstickstoff vergoren in Proz.	19,512	14,329
Nitratstickstoff abgezogen vom Gesamtstickstoff (d. h. organischer Stickstoff) gibt in g	0,088	0,074
durch Kochen mit NaOH gefundene Stickstoffmenge in g	0,055	0,067
Qualitative Untersuchungen	Reaktion auf Ammoniak Reaktion auf salpetrige Säure Reaktion auf Salpetersäure	deutlich deutlich sehr stark

b) Versuchsdauer: 30 Tage.

	Versuch No. 12 Bacterium coli	Versuch No. 14 Bacillus typhi
Geimpft mit		
Gesamtweinsäure gefunden in g	2,737	0,468
Gesamtweinsäure vergoren in g	2,250	4,519
Gesamtweinsäure vergoren in Proz.	45,117	90,615
Stickstoff gefunden nach Jodlbauer in g	0,330	0,297
Stickstoffverlust beim Abdampfen zur Trockne in g	0,017	0,011
Gesamtstickstoff vorhanden in g	0,327	0,308
Gesamtstickstoff vergoren in g	0,083	0,102
Gesamtstickstoff vergoren in Proz.	20,244	24,878
Nitratstickstoff gefunden in g	0,255	0,308
Nitratstickstoff vergoren in g	0,073	0,020
Nitratstickstoff vergoren in Proz.	22,256	6,097
Nitratstickstoff abgezogen vom Gesamtstickstoff (d. h. organischer Stickstoff) gibt in g	0,072	0,000
durch Kochen mit NaOH gefundene Stickstoffmenge in g	0,034	0,024
Qualitative Untersuchungen	Reaktion auf Ammoniak Reaktion auf salpetrige Säure Reaktion auf Salpetersäure	deutlich sehr stark schwach

Beide Mikroben verhalten sich bei Gegenwart der Weinsäure zu den in der Lösung enthaltenen Stickstoffverbindungen so, als wenn in der Lösung Glukose vorhanden wäre. Die Weinsäure übt keinen abweichenden Einfluß auf die Zersetzung dieser Verbindungen aus; die Umwandlung und das Beseitigen der Stickstoffverbindungen aus der Lösung erfolgt langsam und in geringem Maße. Dagegen **attakieren beide Mikroben die Weinsäure sehr leicht und rasch** und beseitigen dieselbe so vollständig, daß wir nirgends

etwas Aehnliches, ja nicht einmal bei der Glukose, die doch beide Mikroben so leicht zersetzen, zu finden vermögen.

Aus der Weinsäure entstehen bis jetzt noch unbekannte Verbindungen, unter welchen weder die Milch- noch die Essigsäure oder sonst irgend eine organische Säure konstatiert werden konnte. Bei der Züchtung der beiden Mikroben in verschiedenen Nährsubstraten erfolgte größtenteils dieselbe Erscheinung: Der *Colibacillus* entwickelt sich besser und rascher und zeichnet sich durch größere Zersetzungs-mächtigkeit als der *Typhusbacillus* aus. Diese Wahrnehmung wurde bei den Glukose enthaltenden Lösungen gemacht. Ersetzen wir aber in dem Nährmedium den Zucker durch Weinsäure, so erfolgt die umgekehrte Erscheinung; der *Bacillus typhi* entwickelt sich besser und rascher und vollführt viel tiefere Zersetzungen als das *Bacterium coli*.

Kurze Zusammenstellung der Ergebnisse.

1) Beide Mikroben attackieren die Glukose leichter bei genügendem Luftzutritt als in der Atmosphäre des Wasserstoffes; dabei ist dem *Bacterium coli*, wie wir es auch bei anderen Kohlehydraten finden, ein größeres Zersetzungsvermögen eigen.

2) Ungewöhnlich leicht und rasch, vollkommener als Glukose, vermögen beide Mikroben die Weinsäure zu spalten; auch in diesem Falle kommen wir nur zu den Unterschieden quantitativer Natur, aber diesmal zeichnet sich der *Typhusbacillus* durch ein größeres Zersetzungsvermögen aus.

3) Bezüglich der stickstoffhaltigen Nährsubstanzen wurden einige schon bestehende Auffassungen bestätigt: Beide Mikroben reduzieren Nitrate in Nitrite, welche aus der Lösung auf unbekannte Weise schwinden; dabei ist wieder das Reduktionsvermögen des *Bacterium coli* viel mächtiger ausgebildet als das des *Bacillus typhi*. Dieses Vermögen gewinnt beim *Bacterium coli* bedeutend an Ausmaß, sobald wir die Luftzufuhr beschränken, denn dann ist es gezwungen, seinen Sauerstoffverbrauch durch die Zersetzung der Nitrate zu decken.

4) Beide Mikroben vergären die Glukose hauptsächlich in zwei organische Säuren, nämlich in die Milch- und Essigsäure. Weil nun der *Colibacillus* für Glukose mit größerem Zersetzungsvermögen und gegenüber der Azidität des Nährmediums mit bedeutendem Widerstande ausgestattet ist als der *Typhusbacillus*, vermag er auch in der Lösung weit größere Mengen beider Säuren zu produzieren.

Bringen wir aber die nach längerer Zeitdauer gebildeten organischen Säuren ins Verhältnis zur vergorenen Glukose, so finden wir folgendes:

a) Bei vollkommenem Luftzutritte entwickelt das *Bacterium coli* aus Glukose viel Essigsäure; diese entsteht wahrscheinlich aus der Milchsäure, deren Menge mit dem Alter der Kultur abnimmt. Der *Bacillus typhi* entwickelt aus Glukose während der ganzen Dauer gleichmäßig viel Milchsäure und wenig Essigsäure.

b) In der Atmosphäre des Wasserstoffes befaßt sich der *Bacillus typhi* hauptsächlich mit der Bildung der Milchsäure, neben welcher er nur unbedeutende Mengen Essigsäure produziert. Das *Bacterium coli* bietet uns in diesem Falle ein ähn-

liches Bild wie der bei vollkommenem Luftzutritte gezüchtete *Bacillus typhi*.

5) Von den konstatierten Unterschieden ist nur einer quantitativer Natur. Es ist dies die Bildung des Kohlendioxydes, die bloß dem *Bacterium coli* eigen ist. Achten wir darauf, damit das *Bacterium coli* in steter Berührung mit der Luft verbleibt, so finden wir, daß mehr des Kohlendioxyds entwickelt wird, als wenn wir den Mikroben in der Wasserstoffatmosphäre züchten.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis der Bakterienflora der erweichten tuberkulösen Herde des Rindes.

[Aus der bakteriologischen Station des Hamburgischen Veterinärwesens.]

Von **Karl Oestern**, Polizeitierarzt in Hamburg.

(Fortsetzung.)

Fall 11.

Kuh, 6 Jahre alt, in mäßigem Ernährungszustande. Tuberkulose der Bronchialdrüse. Dieselbe ist faustgroß, auf dem Einschnitte knirschend, mit verkalktem Inhalte gefüllt. In der rechten Lunge finden sich 2 taubeneigroße Knoten, die auf dem Einschnitte einen graugelben, salbenartigen, etwas schleimigen, geruchlosen Inhalt entleeren. Umgeben ist jeder Knoten von einer schwieligen, bindegewebigen Kapsel. Im mikroskopischen Ausstrichpräparate finden sich Kokken; Tuberkelbacillen waren nicht aufzufinden. In den angelegten Platten waren nur weiße, zum Teil etwas durchscheinende Kolonien gewachsen, die sich alle als Staphylokokkenhaufen herausstellten.

Fall 12.

Tuberkulose der Bronchial- und Mediastinaldrüsen einer 3-jährigen, mäßig genährten Kuh. Beide sind faustgroß, lassen sich schwer schneiden und sind mit einer kalkigen, mörtelartigen Masse angefüllt. In der Lunge sind hauptsächlich die Spitzen mit zahlreichen verkalkten Tuberkeln durchsetzt. Das umgebende Gewebe ist atelektatisch. In der Mitte des linken Hauptlappens am gewölbten Rande finden sich 3 hühnereigroße Knoten, die mit einem gelblich-weißen, käsig-eiterigen Inhalte angefüllt sind. Jeder Herd ist von einer ca. $\frac{1}{2}$ cm starken Bindegewebskapsel umgeben.

Durch die mikroskopische Untersuchung dieses erweichten Inhaltes sind Kokken, vereinzelte ovoiden Bakterien und nach Ziehl-Gabbetscher Färbung auch einzelne Tuberkelbacillen nachzuweisen. In Agarplatten wachsen 3 weiße, lackartig glänzende Staphylokokkenkolonien.

Fall 13.

Färse, 2 Jahre alt, in mäßig gutem Ernährungszustande befindlich. Tuberkulose der Bronchialdrüsen, Lunge, Portaldrüsen, Leber, Gekrösdrüsen, linke Kniefaltendrüse, rechte Darmbeindrüse und des Bauchfells. Letzteres ist mit hirsekorn- bis haselnußgroßen Knoten besetzt, die mit einer mörtelartigen, verkalkten, graugelben Masse angefüllt sind. Die linke Kniefaltendrüse ist kindskopfgroß geschwollen, ebenso ist die rechte Darmbeindrüse stark vergrößert. Beide zeigen fluktuierende Beschaffenheit. Auf dem Einschnitte entleert sich aus beiden ein graugelber, rahmartiger, geruchloser Inhalt, der in der Kniefaltendrüse ca. $\frac{1}{2}$ l beträgt und im Bogen beim Anschneiden hervorspritzt. Umgeben ist jede dieser Drüsen resp. der eiterige Inhalt von einer ca. $\frac{1}{2}$ cm dicken, derben Bindegewebskapsel.

Mikroskopisch sind nach Färbung mit Karbolfuchsin sowie nach Gram Bakterien in dieser eiterigen Masse nicht zu eruieren, jedoch nach Ziehl-Gabbetscher Färbung einzelne Tuberkelbacillen aufzufinden. In Agarplatten wachsen zum Teil isolierte, zum Teil ineinander übergehende, weiße, lackartige Staphylokokkenkolonien in geringer Anzahl.

Fall 14.

Kuh, 4 Jahre alt, in gutem Ernährungszustande. Tuberkulose der Bronchial- und Mediastinaldrüsen. In dem Lungengewebe finden sich 3 hühnereigroße Knoten, welche fluktuieren und auf dem Einschnitte eine weißlich-gelbe, rahmartige, schwach fadenziehende, geruchlose Masse entleeren. Umgeben sind diese Herde von einer derben Bindegewebskapsel. An den Spitzen der vorderen Lungenlappen finden sich viele verkalkte Tuberkel.

Durch die mikroskopische Untersuchung sind in der rahmartigen Masse vereinzelte Kokken nachzuweisen. In den aus dieser Masse angelegten Platten gehen 10 weiße, üppige und 2 zitronengelbe Kolonien auf, die nach der mikroskopischen Untersuchung aus Staphylokokken (weiße) und Sarcinen (zitronengelbe) bestehen.

Fall 15.

Ochse, 3 Jahre alt, in mäßig gutem Ernährungszustande. Es besteht Tuberkulose der Bronchial- und Mediastinaldrüsen, Lunge (verkalkte Tuberkeln), Portaldrüsen, Leber, Nieren, des Bauchfells und der Darmbeindrüsen. Die letzteren sind stark geschwollen, faustgroß und fluktuierend. Angefüllt sind sie mit einer käsig-eiterigen, gelblich-grauen, geruchlosen Flüssigkeit, die auf dem Einschnitte in großem Bogen hervorstürzt. Umgeben ist die ganze ehemalige Drüse von einer derben, bindegewebigen Kapsel. Drüsensubstanz ist nur noch in Spuren an der Peripherie vorhanden.

Mikroskopisch waren in dem eiterigen Inhalte der Darmbeindrüsen einzelne Kokken, nach Ziehl-Gabbetischer Färbung Tuberkelbacillen festzustellen. Auf Agarplatten wuchsen aus diesem Inhalte 3 weiße, lackartige Kolonien, die sich nach der mikroskopischen Untersuchung als Staphylokokken präsentieren.

Fall 16.

Gut genährte Kuh, 6 Jahre alt. Die Bronchialdrüse ist tuberkulös erkrankt. Im mittleren Teile des rechten Lungenlappens finden sich 3 taubeneigroße Knoten, die etwas über die Oberfläche prominieren und sich fluktuierend anfühlen. Es entleert sich auf dem Einschnitte eine gelblich-weiße, breiige Masse. Umgeben ist jeder dieser Herde von einer speckigen Bindegewebskapsel. An den unteren Partien der Lungen (Spitzen), speziell der rechten Seite, finden sich mehrere Lobuli umfassende, derbe Stellen, die aus zahlreichen graugelben, trocken käsigen Herden bestehen. Eine derbe Bindegewebskapsel, die dem Verlaufe des interlobulären Bindegewebes entspricht, begrenzt diese Herde.

Im Ausstrichpräparate waren nur vereinzelte Kokken nachzuweisen. In Platten wuchsen aus diesen erweichten Herden 6 rein weiße, lackartige Kolonien, die alle aus Staphylokokken bestanden.

Fall 17.

Tuberkulose der Bronchial- und Mediastinaldrüsen einer 1½-jährigen, gut genährten Färs. Lunge rosarot und zum größten Teile knisternd. Die Lungenspitzen fühlen sich derb an, knirschen auf dem Einschnitte und enthalten zahlreiche hirsekornbis erbsengroße Knoten, die mit kalkigem, mörtelartigem, graugelbem Inhalte angefüllt sind. Im mittleren Teile des rechten Lungenlappens finden sich 3 taubeneigroße Knoten, die etwas über die Lungenoberfläche hervorragen, sich fluktuierend anfühlen und auf dem Einschnitte einen gelblich-weißen, käsig-eiterigen, rahmartigen, geruchlosen Inhalt entleeren. Umgeben ist jeder dieser Herde von einer speckigen, bindegewebigen Kapsel, die dem Verlaufe des interlobulären Bindegewebes entspricht.

In Ausstrichpräparaten aus dieser käsigen Masse sind nur vereinzelte Kokken nachzuweisen. In Agarplatten wuchsen 7 isolierte, lackartige, weiße Staphylokokkenkolonien.

Fall 18.

Bulle, 3 Jahre alt, in sehr gutem Ernährungszustande befindlich, behaftet mit Tuberkulose der Mediastinaldrüsen, Lungen, Portaldrüsen, Leber und Gekrösdrüsen. In der Lebersubstanz lassen sich 6 taubeneigroße Knoten feststellen, die mit einer gelblich-grauen, etwas fadenziehenden, käsigen-eiterigen, geruchlosen Masse angefüllt sind. Zwischen diesen Knötchen finden sich noch zahlreiche kleinere, zum größten Teile hirsekorngroße Herde, die einen verkalkten, bröckeligen, grauweißen Inhalt besitzen mit einem trüben, käsigen Zentrum. Um die einzelnen Herde ist ein mehr oder weniger starker Bindegewebszug bemerkbar, der besonders kräftig um die erweichten Herde sich findet.

In Ausstrichen aus diesen käsig-eiterigen Massen sind nur einzelne Kokken nachweisbar. In angelegten Platten wuchsen 4 weiße, lackartige und 3 zitronengelbe, iso-

lierte Kolonien. Die ersteren sind Staphylokokken, während die letzteren als Pakete, zu 8 zusammengelagert, erscheinen und sich als Sarcinen erweisen.

Fall 19.

Ochse, 4 Jahre alt, mäßig gut genährt. Es ist Tuberkulose der Bronchial- und Mediastinaldrüsen, Lunge, Portal- und Gekrösdrüsen und Nierendrüsen vorhanden. Sämtliche Körperdrüsen sind stark geschwollen und durchfeuchtet. In besonders starkem Maße ist die linke Bug- und linke Kniefaltendrüse vergrößert. Beide haben fluktuierende Beschaffenheit und entleeren auf Einschnitt eine gelblich-weiße, käsige-eiterige Masse, die geruchlos ist und unter starkem Druck hervorschießt. Von Drüsensubstanz sind nur noch Spuren vorhanden. Der eiterige Inhalt ist von einer speckigen, derben, schwierigen Bindegewebskapsel umgeben.

Im Ausstrichpräparate sind einzelne Kokken und nach Ziehl-Gabbet-Färbung vereinzelt Tuberkelbacillen zu erkennen. In der Platte wachsen 4 goldgelbe und 2 weiße Staphylokokkenkolonien.

Fall 20.

6 Jahre alte Kuh, in mäßigem Ernährungszustande. Tuberkulose der Bronchialdrüse, dieselbe ist faustgroß und besteht aus zahlreichen hirsekorngroßen Herden mit kalkigem, mörtelartigem Inhalte und trübem, käsigem Zentrum. Daneben nach der Peripherie zu ist an Stelle der ehemaligen Drüsensubstanz ein taubeneigroßer, von einer schwierigen Kapsel umschlossener Herd getreten, der eine graugelbe, eiterähnliche, geruchlose Masse enthält.

In Ausstrichen sind zahlreiche Kokken, daneben große bipolare, coliertartige Bakterien und vereinzelt dicke Stäbchen, nach Ziehl-Gabbetscher Färbung vereinzelt Tuberkelbacillen nachzuweisen. Auf Platten wuchsen zahlreiche ineinander übergehende Kolonien, die zum Teil aus Kokken, zum Teil aus bipolaren bestanden. Eine Isolierung der gewachsenen Kolonien war wegen der dichten Besiedelung nicht von Erfolg.

Fall 21.

Ochse, 4½ Jahre alt, in ziemlich schlechtem Ernährungszustande. Tuberkulös erkrankt sind Bronchial- und Mediastinaldrüsen, Lunge, Leber (Portaldrüse), Brust- und Bauchfell, rechte Bug- und Kniefaltendrüse. Auf dem Bauchfelle finden sich zahlreiche erbsen- bis walnußgroße Knoten, die mit einer gelblich-weißen, schmalzartigen, etwas fadenziehenden Masse angefüllt sind. Die rechte Bug- und rechte Kniefaltendrüse sind faustgroß geschwollen, auf dem Einschnitte entleert sich ein schmutzig-grauweißer, rahmartiger, käsige-eiteriger, geruchloser Inhalt. Umgeben ist diese Masse von einer speckigen Bindegewebskapsel.

In Ausstrichpräparaten aus diesem erweichten Inhalte waren einzelne Kokken sowie nach Ziehl-Gabbet-Färbung ganz vereinzelt Tuberkelbacillen aufzufinden. Auf Agarplatten wuchsen rein weiße, lackartige Staphylokokkenkolonien.

Fall 22.

Bronchial- und Mediastinaldrüsen sind mit verkalkten Tuberkeln durchsetzt bei einem 3 Jahre alten, gut genährten Bullen. In der Lunge, und zwar hauptsächlich an den spitzen Rändern, finden sich zahlreiche hirsekorn- bis haselnußgroße, derbe Knoten, die mit verkalktem, bröckeligem Inhalte angefüllt und mit derber, schwieriger Bindegewebskapsel umschlossen sind. An der gewölbten Fläche des linken Mittellappens befinden sich 5 taubeneigroße Herde, die auf dem Einschnitte einen graugelben, käsige-eiterigen, geruchlosen Inhalt entleeren. Umschlossen ist jeder dieser Knoten von einer dem Verlaufe des interlobulären Bindegewebes entsprechenden, starken Bindegewebskapsel.

In Ausstrichen aus dem käsige-eiterigen Inhalte waren Kokken sowie Tuberkelbacillen nachweisbar. In angelegten Agarplatten wuchsen goldgelbe, lackartige Kolonien, die sich als Staphylokokken kennzeichneten.

Fall 23.

Gut genährte, 5 Jahre alte Kuh. Bronchialdrüse ist tuberkulös verändert. In dem Lungengewebe findet sich eine größere Anzahl derber, hirsekorngroßer Knoten, die, wie auf dem Schnitte erkenntlich, durch Zusammenlagerung mehrerer die Größe einer Walnuß erreicht haben und die nur mehr oder weniger durch Bindegewebszüge, dem Verlaufe des interlobulären Bindegewebes entsprechend, voneinander getrennt sind. Diese Knoten besitzen einen kalkigen, klümprigen, graugelben Inhalt. Außerdem finden sich in dem Lungengewebe am gewölbten Rande 3 taubenei- bis hühnereigroße, fluktuierende Knoten, die einen gelblich-weißen, rahmartig-eiterigen, geruchlosen Inhalt beherbergen. Umschlossen sind dieselben von einer festen, schwierigen Bindegewebskapsel.

In Ausstrichpräparaten waren Kokken und nach Ziehl-Gabbetscher Färbung vereinzelte Tuberkelbacillen nachzuweisen. In Agarplatten wuchsen zahlreiche, in 60 Proz. weiße und in 40 Proz. goldgelbe, lackartige Staphylokokkenkolonien.

Fall 24.

Gut genährte, 4 Jahre alte Kuh. Tuberkulose sind Bronchial- und Mediastinaldrüsen sowie Lunge, Portaldrüsen, Leber, Gekrödrüsen, Peritoneum, linke Bug- und linke Darmbeindrüse. Die letzteren sind stark vergrößert, auf dem Einschnitte entleert sich eine rahmartige, käsige, grauweiße, geruchlose Masse; umgeben ist dieser Inhalt von einer derben Kapsel. Drüsengewebe ist nur noch in Spuren vorhanden.

Im mikroskopischen Ausstrichpräparate sind vereinzelte Kokken nachzuweisen. In Platten wachsen nur weiße, lackartig glänzende Staphylokokkenkolonien.

Fall 25.

Färse, 2 Jahre alt, in mäßigem Ernährungszustande. Bronchialdrüse tuberkulös, mit verkalkten Knötchen durchsetzt. In der Lunge befinden sich 2 hühnereigroße Knoten, die sich fluktuierend anfühlen und auf dem Einschnitte einen etwas zähen, käsigen-eiterigen, grauweißen Inhalt entleeren. Umgeben ist jeder Knoten von einer Bindegewebskapsel. In der Nachbarschaft finden sich noch ca. 10 haselnußgroße Knoten mit verkalkter, grauweißer Masse.

Im Ausstriche ist nichts nachweisbar. In Platten gehen 2 weiße, die mikroskopisch als Staphylokokken sich dokumentierten, und 3 zitronengelbe, aus Sarcinen bestehende Kolonien auf.

Fall 26.

7 Jahre alte, gut genährte Kuh. Bronchial- und Mediastinaldrüsen sind tuberkulös verändert. In der Lunge finden sich zahlreiche erbsengroße Knoten mit verkalktem, grauweißem, mörtelartigem Inhalte, daneben 5 haselnußgroße, die mit einer gelblich-weißen, rahmartig-eiterigen Masse angefüllt sind.

Im mikroskopischen Ausstrichpräparate aus diesem eiterigen Inhalte sind Kokken und Tuberkelbacillen festzustellen. In der Agarplatte wuchsen 7 üppige, weiße Kolonien von Staphylokokken.

Fall 27.

Die Bronchialdrüse einer 2½-jährigen, gut genährten Kuh ist tuberkulös erkrankt. Dieselbe ist faustgroß geschwollen, fühlt sich derb an und entleert auf dem Einschnitte eine grauweiße käsige-eiterige, etwas fadenziehende, geruchlose Flüssigkeit, die das Zentrum der Drüse vollständig einnimmt. Nach der Peripherie zu ist dieser Inhalt von einer ¼ cm starken, fibrösen Bindegewebskapsel umgeben, und es befinden sich im ganzen Drüsengewebe zerstreut zahlreiche hirsekorn- bis erbsengroße Knoten, die mit einer grauweißen, mörtelartig-klümprigen Masse angefüllt sind.

Mikroskopisch: Einzelne Kokken. In Platten wuchsen nur weiße Kolonien von Staphylokokken.

Fall 28.

Gut genährter, 4 Jahre alter Ochse. Bronchial- und Mediastinaldrüsen sind tuberkulös verändert und mit verkalkten Knoten durchsetzt. Im linken Lungenlappen am gewölbten oberen Rande finden sich 3 hühnereigroße, fluktuierende Knoten, die im Zentrum mit einer salbenartigen, käsigen-eiterigen, gelblich-weißen Masse angefüllt sind. Nach der Peripherie zu hat sie eine mehr klümprige Beschaffenheit. Umgeschlossen ist jeder dieser Knoten von einer bindegewebigen Kapsel, und es finden sich einzelne kleinere Knoten mit verkalktem Inhalte in der Umgebung. Speziell sind die unteren spitzen Lungenpartien von zahlreichen derartigen Herden besetzt.

Mikroskopisch in dem salbenartigen Inhalte Kokken in geringer Anzahl und in Ausstrichen bei Färbung auf Tuberkelbacillen vereinzelte Keime dieser Art. In Platten wuchsen üppige, weiße Staphylokokkenkolonien.

Fall 29.

Gut genährter, 4 Jahre alter Ochse. Tuberkulose der Bronchial- und Mediastinaldrüsen, Lunge, Gekrödrüsen und linken Kniefalten- und Darmbeindrüse. In der Lunge finden sich 2 hühnereigroße Knoten, die einen gelblich-weißen, käsigen-eiterigen Inhalt beherbergen, daneben zahlreiche erbsengroße Knoten mit verkalktem, grauweißem Inhalte. Linke Kniefalten- und Darmbeindrüse sind faustgroß geschwollen, fühlen sich derb-weich an und entleeren auf dem Einschnitte einen gelbweißen, geruchlosen Inhalt von käsigen-eiteriger Konsistenz.

Im Ausstriche weder nach Färbung mit Karbolfuchsin noch nach Gram noch nach Ziehl-Gabbet Bakterien nachweisbar. In Platten wuchsen 3 weiße, lackartige Staphylokokkenkolonien.

Fall 30.

Lunge einer 2-jährigen, gut genährten Färsen an Tuberkulose erkrankt. Die Bronchialdrüsen sind mit zahlreichen hirsekorn- bis erbsengroßen Herden mit verkalktem, grauweißem Inhalte durchsetzt. Im Lungengewebe finden sich — neben vielen, hauptsächlich an den Spitzen sich befindlichen, verkalkten grauweißen — 2 taubeneigroße, das Gewebe hügelig vorwölbende Knoten, die mit einer käsige-eiterigen, gelblich-weißen, rahmartigen, geruchlosen Masse angefüllt sind. In der Umgebung dieser beiden Knoten befinden sich viele erbsengroße mit trockenem, verkalktem Inhalte.

Im Ausstriche sind Kokken und vereinzelte Tuberkelbacillen nachweisbar. In Platten wachsen reichlich Kolonien, und zwar in 60 Proz. weiße und 40 Proz. schwach gelblich gefärbte, bestehend aus Staphylokokken.

Fall 31.

Bronchialdrüse eines 3-jährigen, ausgezeichnet genährten Bullens tuberkulös erkrankt und faustgroß geschwollen. Auf dem Einschnitte entleert sich eine gelblich-graue, eiterige, zähe, geruchlose Masse von rahmartiger Konsistenz. Von der Drüsensubstanz ist dieser Herd durch eine starke, schwielige Kapsel abgegrenzt. In der Peripherie der Drüse findet sich eine große Anzahl verkalkter, grauweißer Knoten mit trübem, gelbweißem Zentrum. Jeder dieser Herde ist ebenfalls von einer Kapsel umgeben.

In Ausstrichpräparaten sind vereinzelte Kokken und nach Ziehl-Gabbet-Färbung Tuberkelbacillen in geringer Anzahl nachzuweisen. In Plattenkulturen gehen allein weiße Staphylokokkenkolonien auf.

Fall 32.

5-jährige, mäßig gut genährte Kuh mit Tuberkulose der Bronchial- und Mediastinaldrüsen und der Lunge. Im Lungengewebe finden sich neben zahlreichen derben, mit grauweißem, mörtelartig-kalkigem Inhalte versehenen Knoten 4 taubeneigroße, die fluktuieren, und eine gelblich-weiße, käsige-eiterige, schmierige, geruchlose Masse enthalten. Umgeben sind diese letzteren von vielen kleineren, verkalkten Knoten sowie von derber Bindegewebskapsel.

Mikroskopisch sind in der erweichten Masse Kokken und Tuberkelbacillen nachzuweisen. In Platten wachsen weiße, lackartige Staphylokokkenkolonien.

Zusammenstellung der Resultate der vorstehenden Untersuchungen.

Die Untersuchungen zeigen, daß die Bakteriefloren in den erweichten tuberkulösen Herden sehr arm ist. Hauptsächlich fanden sich nur Tuberkelbacillen und Staphylokokken. Erstere waren häufig mikroskopisch nachweisbar, letztere regelmäßig entweder im Ausstrich oder in den angelegten Platten, mit Ausnahme eines Falles (Fall 3), und habe ich je nach der Bildung des Farbstoffes dabei 3 verschieden aussehende Staphylokokkenkolonien unterscheiden können und zwar weiße, goldgelbe und schwachgelbe. Die weißen fand ich 26mal, 7mal die goldgelben und 3mal schwachgelbe. Zum Teil kamen diese gemeinsam, zum Teil isoliert vor. In 22 Fällen waren nur weiße, 2mal nur goldgelbe und 1mal nur schwachgelbe vertreten. In 4 Fällen fanden sich weiße und goldgelbe gemeinsam und in 1 Falle weiße und schwachgelbe, ferner in 1 Falle goldgelbe und schwachgelbe vor. Von sonstigen Bakterien wurden in 3 Fällen zitronengelbe Sarcinen, 2mal kurze, dicke Stäbchen und 3mal ovoide, coliähnliche Bakterien nachgewiesen. In 25 Fällen waren außer den Tuberkelbacillen die Staphylokokken die einzigen Repräsentanten, 1mal waren neben Tuberkelbacillen und Staphylokokken ovoide Bakterien zugegen und 2mal ließen sich gemeinsam Tuberkelbacillen, Staphylokokken, kurze, dicke Stäbchen und ovoide Bakterien nachweisen. Im Falle 3 waren in mikroskopischen Ausstrichpräparaten nur Tuberkelbacillen vorhanden, in den angelegten Platten waren keinerlei Bakterien nachweisbar. Schon makroskopisch unterschied sich der Inhalt dieses erweichten tuberkulösen Herdes von denen der übrigen Fälle dadurch, daß die erweichte Masse eine gelbliche Farbe und schleimig-

wässerige Konsistenz besaß, während in den übrigen Fällen der Inhalt eine käsig-eiterige resp. käsig-schleimige Beschaffenheit zeigte. Die Armut an Bakterien in den Herden, welche schon die mikroskopische Prüfung anzeigte, machte es überflüssig, in jedem Falle sämtliche Kulturmethoden zum Einfangen nicht leicht zu züchtender Bakterien zu benutzen, z. B. von Anaërobiern. Die anfangs in dieser Richtung vorgenommenen Prüfungen förderten ebenfalls nicht mehr Arten Keime zu Tage, als später durch Agarplatten allein erhalten wurden. Was die Tuberkelbacillen anbelangt, so impfte ich in allen Fällen, in denen solche mikroskopisch nicht nachweisbar waren, Meerschweinchen. Die Resultate machen es erklärlich, daß ich die weiteren Prüfungen auf die Kokken beschränkte, da diese in der Mehrzahl der Fälle allein vorkamen und die übrigen Bakterien wegen ihrer Seltenheit nur als gelegentliche Verunreinigungen betrachtet werden konnten. Sehr bemerkenswert ist, daß ich Streptokokken in den erweichten Herden niemals fand.

Prüfung der gezüchteten Kokken.

Um die Kokken, welche in den einzelnen Fällen gewachsen waren, nun näher zu beschreiben, so möchte ich sämtliche weiß wachsenden, ebenso die goldgelben und schwachgelben zusammenstellen.

I. Weiß wachsende Staphylokokken.

Fall 1.

Schräger Agar: Rein weißer, lackartiger, glänzender Belag mit gekerbtem Rande. Weißer Bodensatz in dem unteren Teile des klaren Kondenswassers.

Agarplatte: Runde, glänzende, weiße Scheiben, die sich zum Teil kuppenartig über den Agar vorwölben. Im durchfallenden Lichte erscheinen sie fein granuliert, grauweiß, mit einem zum Teil glatten, zum Teil aufgeworfenen Rande.

Gelatineplatte: Feine, weiße Pünktchen, die sehr langsam größer werden. Am 4. Tage haben sie bereits eine Verflüssigungsschicht um sich. Am 10. Tage schwimmen die einzelnen Kolonien als feine, weiße, zusammenhängende Klümpchen in der flüssigen Gelatine umher.

Gelatinestich: Starkes Wachstum in Form eines glänzenden, weißen Belages auf der Oberfläche, im Stich in Form von kleinsten Körnchen. Nach 9 Tagen trichterförmige Einsenkung im Impfstich in Form verflüssigter Gelatine. Nach 14 Tagen hat die Verflüssigung an der Oberfläche den Glasrand erreicht. Die verflüssigte Gelatine ist klar, bedeckt mit weißem Häutchen und weißer Anlagerung an dem Glasrand. An der Grenze der flüssigen und festen findet sich ein grauweißes Sediment.

Kartoffel: Trockene, grauweiße, feine, punktförmige Auflagerung.

Erstarrtes Serum: Weißer, schleimiger, glänzender, wenig üppiger Belag. Am Boden schwach gelblicher Niederschlag. Kondenswasser klar. Serum nicht verflüssigt.

Bouillon: Nach 24 Stunden gleichmäßig getrübt mit weißem Bodensatz. Trübung bleibt auch in älteren Kolonien bestehen. Beim Schütteln hebt sich der Bodensatz zum Teil in Flocken- und Fadenform ab, zum Teil bleibt er haften. Auf der Oberfläche dünne Häutchenbildung.

Milch: Nach 5 Tagen geronnen, reichlich Molken ausgeschieden, späterhin wird sie durchscheinend glasig.

Fall 2.

Schräger Agar: Weiße, schleimige, glänzende Auflagerung mit glattem Rande.

Agarplatte: Nach 48 Stunden weiße, glänzende Scheiben. Die oberflächlich gelegenen wölben sich kuppenförmig vor, breiten sich späterhin flach aus wie Fall 1.

Gelatineplatte: Die einzelnen Kolonien haben bereits am 3. Tage eine Verflüssigungsschicht um sich, am 8. Tage ist die ehemalige feste Gelatine in eine vollständig flüssige umgewandelt, die von zahlreichen, als Pünktchen auftretenden Kolonien durchsetzt ist.

Gelatinestich: Nach 6 Tagen ist der Impfstich an dem oberen Ende mit verflüssigter Gelatine bedeckt, die am 8. Tage die Oberfläche der Glaswand erreicht hat. Die verflüssigte ist schwach getrübt, auf der Oberfläche mit einem dünnen, weißen Häutchen bedeckt.

Kartoffel: Wie Fall 1.

Serum: Wie Fall 1. Belag mit eingeschnittenem Rande.

Bouillon: Wie Fall 1. Der abgelagerte Bodensatz hebt sich beim Schütteln vollständig los und durchzieht in Fadenform gleichmäßig die Flüssigkeit.

Sterilisierte Milch: Nach 2 Tagen geronnen, wenig Molken abgeschieden.

Fall 4.

Schräger Agar: Wie Fall 1.

Gelatineplatte: Die einzelnen Kolonien haben nach 5 Tagen eine Verflüssigungsschicht um sich, sonst wie Fall 1.

Gelatinestich: Starkes Wachstum auf der Oberfläche in Form eines lackartigen, runden Belags. Im Stichkanal bildet sich ein schmaler, etwas gekörnter Streifen, der nur in der Dicke zunimmt. Das Ganze hat die Form eines Nagels. Nach 10 Tagen trichterförmige Einsenkung der verflüssigten Gelatine im Impfstich, die nach 12 Tagen den oberflächlichen Glasrand erreicht hat.

Kartoffel: Wie Fall 1. Auflagerung gekerbt.

Erstarrtes Serum: Wie Fall 1. Nur ist der Bodensatz weiß gefärbt.

Bouillon: Wie Fall 2.

Milch: Am 10. Tage mit weißen Flocken durchsetzt, am 12. Tage gleichmäßig gallertig geronnen.

Fall 6.

Agarplatte: Wie Fall 1.

Agarstrich: Wie Fall 4.

Gelatineplatte: Wie Fall 1.

Gelatinestich: Am 6. Tage trichterförmige Einsenkung der verflüssigten Gelatine im Impfstich. Die Verflüssigung schreitet schnell fort.

Kartoffel: Wie Fall 1.

Serum: Wie Fall 4.

Bouillon: Wie Fall 1.

Milch: Nach 6 Tagen gleichmäßig geronnen.

Fall 9.

Agarplatte: Wie Fall 1.

Agarstrich: Anfangs weißer Belag, der sich später gelblichweiß färbt.

Gelatineplatte: Nach 3 Tagen um jede einzelne punktförmige Kolonie eine verflüssigte Schicht; nach 6 Tagen schwimmen die Kolonien in der flüssigen Gelatine umher.

Gelatinestich: Nach 3 Tagen Verflüssigung im Impfstich, die nach 5 Tagen die oberflächliche Glaswand erreicht hat. Die verflüssigte ist getrübt. An der Grenze der festen und flüssigen ein grauweißes Sediment.

Kartoffel: Wie Fall 1.

Serum: Wie Fall 1.

Bouillon: Wie Fall 2.

Milch: Nach 10 Tagen bei Zimmertemperatur gleichmäßig geronnen.

Fall 10.

Agar: Wie Fall 1.

Gelatineplatte: Die punktförmigen Kolonien haben nach 4 Tagen einen Verflüssigungerring um sich.

Gelatinestich: Nach 5 Tagen ist Verflüssigung vom Stiche aus eingetreten.

Kartoffel: Wie Fall 1.

Serum: Gelblichweiße Auflagerung.

Bouillon: Wie Fall 2.

Milch: Gleichmäßig geronnen, eine feste Masse bildend.

Fall 11.

Agar: Schwach bläulichweißer, glasurartiger Belag.

Gelatineplatte: Keine Verflüssigung eingetreten.

Gelatinestich: Starkes Wachstum auf der Oberfläche, im Stich geringer. Verflüssigung nicht eingetreten.

Kartoffel: Trockene, weiße Auflagerung.

Serum: Schleimig glänzender, weißer Belag.

Bouillon: Wie Fall 2.

Milch: Nach 6 Tagen geronnen, reichlich Serum abgesondert.

Fall 12.

Agar: Wenig üppiger, weißer, schleimiger Belag.

Gelatineplatte: Wie Fall 1.

Gelatinestich: Nach 6 Tagen Oberfläche mit verflüssigter Gelatine bedeckt;
 Kartoffel: Wie Fall 1.
 Serum: Wie Fall 1. Bodensatz weißglänzend.
 Bouillon: Wie Fall 2.
 Milch: Nach 5 Tagen geronnen, wenig Serum ausgeschieden.

Fall 13.

Agar: Wie Fall 1.
 Gelatineplatte: Am 3. Tage sind die einzelnen Kolonien von dünner Verflüssigungsschicht umgeben.
 Gelatinestich: Am 4. Tage sackförmige Einsenkung im Impfstiche. Am 6. Tage hat die Verflüssigung den Glasrand erreicht. Die verflüssigte ist klar.
 Kartoffel: Wie Fall 1.
 Serum: Wie Fall 11.
 Bouillon: Wie Fall 2.
 Milch: Am 5. Tage geronnen, mit etwas Serumausscheidung.

Fall 14.

Agar: Wie Fall 2.
 Gelatinestich: Nach 5 Tagen im Impfstiche verflüssigte Gelatine. Dieselbe ist klar, überzogen von grauweißem Häutchen. Verflüssigung geht schnell weiter.
 Kartoffel: Wie Fall 1.
 Serum: Schleimig-weißer, lackartiger Belag.
 Bouillon: Wie Fall 2.
 Milch: Nach 2 Tagen zur gleichmäßig festen Masse geronnen.

Fall 15.

Agar: Wie Fall 2.
 Gelatineplatte: Am 8. Tage sind die kleinen Kolonien von flüssiger Gelatine umgeben, nach 15 Tagen ganz verflüssigt.
 Gelatinestich: Nach 11 Tagen im Stiche Verflüssigung, die am 13. Tage die Glaswand erreicht hat.
 Kartoffel: Schleimig-glänzender, weißer Belag.
 Serum: Wie Fall 1.
 Bouillon: Wie Fall 2.
 Milch: Nach 8 Tagen geronnen.

Fall 16.

Agar: Wie Fall 1.
 Gelatine: Schwaches Wachstum. Nach 20 Tagen trichterförmige Einsenkung und Verflüssigung im Stich, die nach 23 Tagen die Glaswand erreicht.
 Kartoffel: Trockener, weißglänzender Belag.
 Serum: Wie Fall 10.
 Bouillon: Wie Fall 1.
 Milch: Nach 10 Tagen geronnen, mit reichlicher Molkenausscheidung.

Fall 17.

Agar: Schleimig-weißer Belag.
 Gelatine: Nach 4 Wochen Oberfläche mit flüssiger, schwach getrübler Gelatine bedeckt.
 Kartoffel: Wie Fall 1.
 Serum: Wie Fall 1.
 Bouillon: Wie Fall 1.
 Milch: Nach 5 Tagen geronnen, wenig Serum abgesondert.

Fall 18.

Agar: Wie Fall 1.
 Gelatineplatte: Wie Fall 2.
 Gelatinestich: Nach 5 Tagen ist, vom Stich ausgehend, Verflüssigung eingetreten, die nach 7 Tagen die Glaswand erreicht hat.
 Kartoffel: Trockener, weißer Belag.
 Serum: Schleimig-glänzende, weiße Auflagerung.
 Bouillon: Wie Fall 1. Auf der Oberfläche ein Häutchen.
 Milch: Am 5. Tage geronnen.

Fall 19.

Agar: Wie Fall 2.
 Gelatinestich: Am 4. Tage Impfstich mit flüssiger Gelatine angefüllt, die am 5. Tage die Glaswand erreicht hat. Die flüssige ist klar.

Kartoffel: Wie Fall 2.
Serum: Wie Fall 2.
Bouillon: Wie Fall 2.
Milch: Nach 10 Tagen geronnen.

Fall 21.

Agar: Weißer, lackartiger Belag.
Gelatinestich: Keine Verflüssigung eingetreten.
Kartoffel: Wie Fall 1.
Serum: Weißgelblicher, glänzender Belag.
Bouillon: Wie Fall 2.
Milch: Nach 4 Tagen zur festen Masse geronnen.

Fall 23.

Agar: Schleimig-glänzender, weißer Belag.
Gelatine: Nach 11 Tagen Verflüssigung eingetreten.
Kartoffel: Wie Fall 2.
Serum: Schleimig-weißer Belag.
Bouillon: Wie Fall 1.
Milch: Nicht geronnen.

Fall 24.

Agar: Wie Fall 1.
Agarplatte: Wie Fall 1.
Gelatine: Nach 5 Tagen, von oben nach unten im Impfstiche fortschreitend, Verflüssigung eingetreten.
Kartoffel: Wie Fall 1.
Serum: Wie Fall 2.
Bouillon: Wie Fall 1.
Milch: Nach 9 Tagen geronnen, etwas Serum ausgeschieden.

Fall 25.

Agar: Wie Fall 2.
Gelatinestich: Keine Verflüssigung eingetreten.
Kartoffel: Wie Fall 1.
Serum: Wie Fall 4.
Bouillon: Getrübt, mit grauweißem Bodensatz, der sich beim Schütteln in Flocken abhebt.
Milch: Nach 4 Tagen geronnen.

Fall 26.

Agar: Grauweißer, verwaschener, glänzender Belag.
Gelatine: Nach 18 Tagen Verflüssigung eingetreten.
Kartoffel: Grauweißer, schleimig-glänzender Belag.
Serum: Schleimig-grauweiße Auflagerung.
Bouillon: Wie Fall 2.
Milch: Nach 3 Tagen zur festen Masse geronnen.

Fall 27.

Agar: Wie Fall 1.
Gelatine: Nach 5 Tagen Oberfläche verflüssigt.
Kartoffel: Wie Fall 1.
Serum: Wie Fall 1.
Bouillon: Wie Fall 1.
Milch: Nach 20 Tagen gallertig geronnen.

Fall 28.

Agar: Wie Fall 2.
Gelatineplatte: Die Kolonien sind von keinem Verflüssigungshofe umgeben.
Gelatinestich: Keine Verflüssigung eingetreten.
Kartoffel: Wie Fall 2.
Serum: Wie Fall 4, mit glattem Rande.
Bouillon: Getrübt. Bodensatz hebt sich schwer ab.
Milch: Nach 8 Tagen geronnen.

Fall 29.

Agar: Rauher, graubläulicher, glänzender Belag, mit kleinen Vertiefungen.
Gelatine: Nach 10 Tagen Verflüssigung eingetreten.

Kartoffel: Trockener, punktförmiger, weißer Belag.
 Serum: Schleimig-weißer Belag, mit gezacktem Rande.
 Bouillon: Wie Fall 2.
 Milch: Nach 12 Tagen geronnen.

Fall 30.

Agar: Wie Fall 2.
 Gelatine: Schwaches Wachstum, nach 14 Tagen Verflüssigung, vom Impfstich aus, eingetreten.

Kartoffel: Wie Fall 1.
 Serum: Wie Fall 4.
 Bouillon: Wie Fall 1.
 Milch: Am 10. Tage geronnen.

Fall 31.

Agar: Weißer, schleimiger Belag.
 Gelatineplatten: Wie Fall 1.
 Gelatinestich: Nach 6 Tagen Verflüssigung eingetreten.
 Kartoffel: Wie Fall 1.
 Serum: Schleimig-weißer Belag.
 Bouillon: Wie Fall 2.
 Milch: Nach 4 Tagen geronnen, reichlich Serum ausgeschieden.

Fall 32.

Agar: Weißer, glänzender Belag.
 Gelatinestich: Am 4. Tage ist Verflüssigung eingetreten.
 Kartoffel: Wie Fall 1.
 Serum: Wie Fall 1.
 Bouillon: Wie Fall 2.
 Milch: Nach 4 Tagen zur festen Masse geronnen.

II. Goldgelb wachsende Kokken.

Fall 2.

Agarplatte: Runde, goldgelbe, lackartige Scheiben mit vorgewölbtem Zentrum.
 Schräger Agar: Goldgelber, glänzender Belag mit ebensolchem Bodensatz.
 Gelatineplatte: Nach 2 Tagen punktförmige Kolonien, die am 5. Tage von einem Hofe flüssiger Gelatine umgeben sind. Am 11. Tage vollständig verflüssigt.
 Gelatinestich: Nach 12 Tagen dellenförmige Einsenkung im Impfstiche und von oben nach unten fortschreitende Verflüssigung. Die flüssige ist klar, mit geringen Fasern durchzogen. Goldgelbes Sediment.
 Kartoffel: Punktförmiger, goldgelber, schleimiger Belag, sich allmählich flächenartig ausbreitend.
 Serum: Goldgelber, schleimiger Belag.
 Bouillon: Flockig getrübt, mit grau gelbem Bodensatz, der sich zum Teil beim Schütteln löst, zum Teil haften bleibt.
 Milch: Nach 4 Tagen geronnen, reichlich grauweißes Serum ausgeschieden.

Fall 4.

Agarplatte: Wie Fall 1.
 Agar: Gelblich-weißer, schleimiger Belag, mit goldgelbem Bodensatz.
 Gelatineplatte: Nach 10 Tagen sind die Kolonien von einer flüssigen Schicht umgeben.
 Gelatinestich: Nach 20 Tagen verflüssigt, schwach getrübt, mit dünnem, gelbem Häutchen bedeckt.
 Kartoffel: Goldgelber, glänzender Belag.
 Serum: Wie Fall 2.
 Bouillon: Bodensatz goldgelb, hebt sich vollständig ab.
 Milch: Nach 5 Tagen zur festen Masse geronnen.

Fall 6.

Agar: Schleimig-rötlich-gelber Belag.
 Gelatine: Nach 5 Tagen Verflüssigung eingetreten, die flüssige getrübt, am Boden rötlich-gelbes Sediment.
 Kartoffel: Wie Fall 2.
 Serum: Schleimig-rötlich-gelber Belag.
 Bouillon: Schwach getrübt, sonst wie Fall 4.
 Milch: Nach 12 Tagen geronnen, reichlich Molken ausgeschieden.

Fall 7.

Agar: Goldgelber, glänzender Belag.

Gelatine: Nach 19 Tagen Verflüssigung eingetreten.

Kartoffel: Goldgelber Belag.

Serum: Wie Fall 4.

Bouillon: Wie Fall 4.

Milch: Nach 5 Tagen mit wenig Serumausscheidung geronnen.

Fall 8.

Agar: Wie Fall 4.

Gelatine: Am 6. Tage verflüssigt, dieselbe grünlich-gelb getrübt, mit goldgelbem Sediment.

Kartoffel: Wie Fall 4.

Serum: Wie Fall 4.

Bouillon: Nach 24 Stunden getrübt, mit goldgelbem Bodensatz.

Milch: Nach 10 Tagen geronnen.

Fall 19.

Agar: Wie Fall 2.

Gelatine: Nach 4 Tagen mit Verflüssigungsschicht bedeckt, vom Impfstiche ausgehend.

Kartoffel: Wie Fall 2.

Serum: Schleimiger, goldgelber Belag.

Bouillon: Wie Fall 6.

Milch: Nach 5 Tagen geronnen.

Fall 22.

Agar: Goldgelber, schleimiger Belag, mit gekerbtem Rande.

Gelatine: Geringes Wachstum im Stiche, nach 5 Wochen Verflüssigung eingetreten.

Kartoffel: Wie Fall 2.

Serum: Wie Fall 4.

Bouillon: Wie Fall 4.

Milch: Nicht geronnen.

III. Schwach gelb wachsende Kokken.

Fall 5.

Agarplatte: Wie Fall 2 (goldgelb).

Schräger Agar: Gelblich-weißer, glänzender Belag, mit gelbem Bodensatz.

Gelatineplatte: Am 3. Tage sind die punktförmigen Kolonien von einem Hofe flüssiger Gelatine umgeben, nach 8 Tagen ist die ganze Platte flüssig.

Gelatinestich: Am 4. Tage auf der Oberfläche und im Stich verflüssigt, mit weißem Häutchen.

Kartoffel: Glänzend feuchter, gelber Belag.

Serum: Schleimiger, schwach gelber Belag.

Bouillon: Getrübt, hellgelber Bodensatz, der sich durch kräftiges Schütteln in Fäden abhebt.

Milch: Nach 8 Tagen bei Zimmertemperatur geronnen.

Fall 8.

Agar: Schleimiger, weißgelber Belag.

Gelatine: Nach 3 Tagen Oberfläche mit flüssiger, vom Impfstich aus, trüber Gelatine bedeckt.

Kartoffel: Wie Fall 5.

Serum: Wie Fall 5.

Bouillon: Wie Fall 5.

Milch: Am 5. Tage geronnen, etwas Serum ausgeschieden.

Fall 30.

Agar: Wie Fall 8.

Gelatine: Nach 10 Tagen Verflüssigung eingetreten.

Kartoffel: Schleimiger, hellgelber Belag.

Serum: Wie Fall 5.

Bouillon: Getrübt, Bodensatz leicht aufwirbelnd.

Milch: Nach 9 Tagen geronnen, mit geringer Serumausscheidung. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Zur Morphologie und Biologie des Mikroben der Bubonenpest und des Pseudotuberkulosebacillus der Nagetiere (*Bac. pseudotuberculosis rodentium* Pf.).

[Aus dem Laboratorium „Fort Alexander I.“ des Instituts f. experim. Medizin zu St. Petersburg.]

Von Privatdozent Dr. S. J. Zlatogoroff.

Trotz dem Uebermaße von Veröffentlichungen, welche die Bakteriologie der Bubonenpest behandeln, sind bis jetzt alle Eigentümlichkeiten des Pestmikroben noch durchaus nicht erschöpfend studiert worden; ja noch mehr, man ist bis jetzt noch in Betreff einiger wesentlicher biologischer Eigenschaften dieses Mikroben nicht übereingekommen, weshalb er nicht sofort in die eine oder die andere Gruppe von Mikroben einzureihen ist. Es braucht nicht erst betont zu werden, daß diese Sachlage bei der Lösung rein praktischer, die Diagnosestellung der Pest betreffender Fragen durchaus nicht ohne Belang ist. Es genügt, wenn ich, um die Sachlage zu charakterisieren, darauf hinweise, daß die Autoren, welche den Pestbacillus entdeckt haben (Yersin, Kitasato), ihn sogar in seinen wesentlichen Merkmalen ganz verschieden beschreiben. Während nach Yersin der Bacillus sich nicht nach Gram färbt, die Bouillon nicht trübt und die Milch nicht koaguliert, besitzt er nach Kitasato gerade die entgegengesetzten Eigenschaften, d. h. er nimmt Gramsche Färbung an, trübt die Bouillon und koaguliert die Milch. Nicht, weniger Meinungsverschiedenheiten bestehen auch in betreff der anderen wesentlichen Eigenschaften des Mikroben, des Temperaturoptimums, seiner Beweglichkeit, seines Fortpflanzungsmodus, der Produktion von reduzierenden Substanzen, Säuren, Alkalien u. s. w. Verschiedene Autoren geben ein verschiedenes Temperaturoptimum für das Gedeihen des Mikroben an; dasselbe schwankt zwischen der Zimmertemperatur (Kasansky) und 37° C (Kitasato, Yersin, Wilm, Gabritschewsky). Während die meisten Forscher den Pestbacillus für unbeweglich und nicht sporentragend halten, haben ihn einige als einen beweglichen und sporenbildenden Mikroben beschrieben [Ibrahim Bey (1)]. Nach Abel und Gladin (2) bilden sich in den Bouillonkulturen Säuren, die österreichische Kommission aber gibt Steigerung der Alkaleszenz an.

Selbst wenn wir diese widersprechende Charakteristik des Mikroben nicht weiter beachten und uns ihn nach dem Vorbilde von Yersin mit gewissen typischen und beständigen Eigenschaften behaftet denken, werden wir dennoch bei der differentiellen Diagnose auf bedeutende Schwierigkeiten stoßen, da es Mikroben gibt, welche ihren morphologischen und biologischen Merkmalen nach dem Pestbacillus sehr nahe stehen, obgleich sie keine typische Pestkrankung hervorrufen. Hierher gehört die Gruppe der Mikroben der sogenannten hämorrhagischen Septikämie und außerdem namentlich der Bacillus der Pseudotuberkulose der Nagetiere; dieser letztere nähert sich in seiner Morphologie dem Pestbacillus in dem Maße, daß in letzter Zeit das Studium dieses Mikroben neben dem Pestbacillus ganz besondere Beachtung gefunden hat [Galli-Valerio (3)].

Meine Untersuchungen wurden in der Absicht unternommen, den Typus des Pestmikroben festzustellen; zu diesem Zwecke studierte ich die morphologischen und biologischen Eigenschaften von Pestbacillen, welche aus verschiedenen Quellen und aus verschiedenen Weltteilen stammten. Durch dieses vergleichende Studium von Pestmikroben verschiedenen Ursprungs hoffte ich die besonderen Eigenschaften eines jeden Mikroben, wenn solche wirklich bestehen, verzeichnen zu können. Daneben wurde von mir auch der Pseudotuberkulosebacillus der Nager, welcher dem Pestbacillus am nächsten steht, studiert, in der Absicht, seine wesentlichen und beständigen Unterscheidungsmerkmale im Vergleich zu dem Pestbacillus zu bestimmen.

Mir standen im ganzen 2 Kulturen des Pseudotuberkulosebacillus der Nager (eine von Prof. D. K. Zabolotny, die andere von Dr. Král aus Prag) und 22 Kulturen des Pestbacillus zur Verfügung; 2 von diesen letzteren waren Rattenpestkulturen aus Odessa und Südafrika von Edington und 20 Kulturen stammten von Menschen, und zwar: aus Bombay von der ersten Epidemie (Bombay I), aus Bombay von späteren Epidemien (Bombay II); aus Paris No. 1, aus Paris No. 2 (beide aus dem Institut Pasteur); aus Oporto — von der Epidemie 1899; aus Glasgow — von der Epidemie 1900; aus Kolobowka — von der Epidemie 1899; aus Batum — von der Epidemie 1901; aus Tekebai — von der Epidemie 1900; aus Wladimirowka — von der Epidemie 1900; aus der Mongolei, von D. K. Zabolotny im Jahre 1898 isoliert, aus Rosario in Südamerika, aus Akssai K., aus Akssai Sch. und aus Akssai M. — von 3 Kranken der Epidemie 1902 (Akssai M. von einem Kranken mit Pestmeningitis); aus Odessa T. — von einem Kranken mit sehr schwerem Krankheitsverlaufe; aus Odessa L. — von einem Kranken mit leichtem Krankheitsverlaufe; aus Odessa A. — von einem ambulanten Pestkranken; aus Odessa S. — von einem Kranken mit putrider Pest; die Odessaer Kulturen stammen von der Epidemie 1902; aus Kuduk in der Kirgisenhorde — von der Epidemie 1902.

Alle mir zur Verfügung stehenden Pestkulturen stellten verschiedene Generationen der ursprünglichen, direkt aus dem Menschen- oder Tierkörper angelegten Kulturen dar und mußten, da sie mehr oder weniger lange Zeit im Laboratorium auf künstlichen Nährmedien gezüchtet worden waren, natürlich verschiedene Grade der Virulenz besitzen. Die Kulturen wurden auf Bouillon und Agar übergeimpft, die erste Generation derselben wurde dann an Mäuse und Meerschweinchen (die Rattenkulturen auch an graue Ratten) verimpft. Nach all diesen Impfungen gingen die Tiere in verschiedenen Zeiträumen unter dem typischen anatomischen Bilde der Pest ein. Eine Ausnahme bildete nur die südafrikanische Rattenpestkultur (von Edington), welche nur Ratten und Mäuse tötete (Meerschweinchen blieben am Leben); sogar für graue Ratten und weiße Mäuse erwies sie sich als sehr wenig virulent: Mäuse wurden nur durch 0,5–1,0 ccm einer eintägigen Bouillonkultur, Ratten durch 1,0–2,0 ccm derselben getötet. Als besonders virulent erwiesen sich die alte Bombaysche und die Kultur aus Wladimirowka: 0,1 ccm einer eintägigen Kultur dieser Mikroben töteten ein Meerschweinchen von 300–400 g Gewicht in 4 Tagen. Die übrigen Kulturen waren bedeutend schwächer. Es verdient, erwähnt zu werden, daß der Virulenzgrad der Kulturen Tieren gegenüber der Schwere des Krankheitsverlaufes bei den Kranken, von denen sie stammten, durchaus nicht entsprach. So standen mir von der Odessaer Epidemie des Jahres 1902 unter anderen zwei Kulturen zur

Verfügung, die eine von einem ambulanten Kranken, die andere von einem Kranken mit sehr schwerer, septischer Pest. Die an Tieren erprobte Virulenz beider Kulturen war fast gleich. Zur vergleichenden Bestimmung des Virulenzgrades verschiedener Kulturen können wir nur die durchaus nicht genaue Methode der Verdünnung verwenden. In den Fällen, wo der Virulenzgrad der Kulturen ein geringer ist und wo infolgedessen den Tieren große Mengen von Mikroben einverleibt werden müssen, spielt die Ungenauigkeit der Methode keine so hervorragende Rolle. Ganz anders liegen die Dinge bei Versuchen mit hochvirulenten Kulturen, welche auf das Hundert-, sogar Tausendfache verdünnt werden müssen. Nimmt man eine hochvirulente Pestbacillenkultur, von der $\frac{1}{100000}$ ccm (einer eintägigen Bouillonkultur) ein Meerschweinchen tötet, fertigt man unter Berücksichtigung sämtlicher Kautelen von ihr eine Verdünnung in physiologischer Kochsalzlösung an und injiziert man diese letztere in gleichen Dosen mehreren Meerschweinchen (von gleichem Gewicht, Geschlecht und gleicher Färbung), so gehen die Tiere in verschiedenen Zeitabschnitten, mit 4 Tagen beginnend bis zu 6—7 Tagen, zu Grunde. Wie ist nun diese verschiedene Wirkung ein und derselben Quantität der Kultur auf eine Serie ganz gleicher Tiere zu erklären? Kann sie ausschließlich von den individuellen Eigenschaften eines jeden Tieres abhängen oder ist hier die ungenaue Dosierung zu beschuldigen? Alle diesbezüglichen Versuche beweisen nun zur Genüge, daß die erste Bedingung nur bei ganz exakter Dosenverteilung in Betracht gezogen werden kann. Indessen gibt jedoch die Verdünnungsmethode nicht die Möglichkeit, sich eine genaue Vorstellung von der Menge der einverlebten Mikroben zu bilden. In Abhängigkeit davon, wie sich das Wachstum der Kultur gestaltet, wie die Mikrobenleiber beschaffen sind, erhält man in einem Falle eine konzentriertere, in dem anderen Falle eine weniger konzentrierte Emulsion. Selbst bei sorgfältigster Verteilung einer aus einer Agar- oder Bouillonkultur hergestellten Emulsion werden zwei gleiche Volumina derselben niemals die gleiche Menge Mikroben enthalten. Noch größer ist der Unterschied, wenn man aus verschiedenen Kulturen angefertigte Emulsionen vergleicht. Wenn wir also das Volumen der einverlebten Kultur angeben (z. B. sagen, daß wir einen solchen Teil eines Agarröhrchens oder eine solche Verdünnung einer Bouillonkultur injiziert haben), so können wir uns hiernach keine Vorstellung von der Menge der einverlebten Mikroben, was ja aber die Hauptsache ist, machen. Um eine wahre Vorstellung von der Genauigkeit unserer Dosenverteilung zu gewinnen, zählte ich, wieviel Mikroben in einem bestimmten Volumen enthalten sind. Diese Zählung ergab, daß ein und dasselbe Volumen verschiedene Mengen von Mikroben enthält. Wenn wir mit irgend einer Kultur experimentieren, so können wir die Virulenz derselben nur nach der Mikrobenmenge, welche beim Tiere eine Pesterkrankung hervorruft oder dasselbe tötet, beurteilen. Ich zählte infolgedessen in allen Fällen, wo die Virulenz der Kulturen genau bestimmt werden mußte, wieviel Kolonien aus einem bestimmten Volumen der Kultur wuchsen.

Nachdem ich die Virulenz meiner Kulturen bestimmt hatte, studierte ich dieselben in anderen Richtungen. Vor allem untersuchte ich die Morphologie der Mikroben sowohl auf künstlichen Nährmedien als auch im tierischen Organismus. Die Mikroben wurden auf verschiedenen Nährmedien gezüchtet und dann bis zu 12—18 Monaten aufbewahrt; hierbei konnten die verschiedenen biologischen Eigenschaften und die

allmählichen Veränderungen des Mikroben studiert werden. Die Mikroben wurden nicht nur in vitro verglichen, sondern auch in Bezug auf ihre physiologischen Beziehungen zum Organismus und zu seinen Produkten (Agglutinations-, Präzipitationsreaktion, Pfeiffersches Phänomen u. a. m.). Genauer über die Methodik findet man an den betreffenden Orten angegeben.

Morphologie der Pestkulturen.

Der Pestbacillus zeichnet sich bekanntlich durch seinen bemerkenswerten Formenreichtum aus. Namentlich in von Tieren gewonnenen Präparaten kann man die mannigfaltigsten Formen desselben, von vollständig runden, kokkenartigen bis zu langen fadenförmigen Gebilden, beobachten. Es war von Interesse, zu verfolgen, inwieweit der Polymorphismus den verschiedenen Pestkulturen eigen ist, ob die sogenannten Involutionsformen nicht ein Kunstprodukt darstellen und ob die verschiedenen Kulturen sich nicht in Bezug auf die Größe der einzelnen Mikroben voneinander unterscheiden? In Betreff des Choleravibrio wissen wir ja z. B., daß er bei verschiedener Herkunft sehr bedeutende Größenunterschiede der Mikrobenleiber zeigt. Um auf die oben gestellten Fragen zu antworten, injizierte ich Serien von gleichartigen Tieren (z. B. Meerschweinchen) verschiedene Kulturen (in jeder Serie von Versuchen gleichartige Bouillon- oder Agarkulturen) und fertigte dann, wenn das Tier zu Grunde ging, Strichpräparate aus den Organen desselben an, und zwar beim noch lebenden, aber dem Ende nahen Tiere, dann beim eben verschiedenen Tiere und schließlich bei einem Tiere, welches viele Stunden nach dem Tode gelegen hatte.

Nicht fixierte sowie fixierte Strichpräparate wurden in verschiedener Weise gefärbt. Als Fixierungsmittel dienten mir Erhitzen auf 120°, ein Gemisch von absolutem Alkohol und Aether, absoluter Alkohol, eine konzentrierte wässrige Sublimatlösung, ein Gemisch von Sublimat und Essigsäure (nach Nicolle), Osmiumsäuredämpfe, Flemmingsche Flüssigkeit, Formalin. Gefärbt wurden die Präparate vornehmlich mit Eosin und Methylenblau, zwei Farben, welche die besten Kontrastpräparate geben. Von Methylenblaulösungen wurden eine alkoholische, eine wässrige und eine alkalische (nach Loeffler) angewandt. Besonders rasche und zarte bipolare Färbung gibt eine alte, wässrige Methylenblaulösung. Es wurden auch andere Farben, Fuchsin, Polychromblau, Gentianaviolett, Dahlia (nach Roux), Nigrosin, Vesuvin, Thionin und andere, erprobt. Von ihnen wurden am häufigsten die violetten Farben, welche nächst dem Methylenblau die besten Präparate erzielen ließen, angewandt. Zu gewöhnlichen Zwecken, wo nur das Vorhandensein von Bakterien festgestellt werden muß, können die Präparate natürlich über der Flamme fixiert werden, handelt es sich aber um das Studium der feineren Strukturverhältnisse und um die übersichtlichere Verteilung der „bunten“ Färbung, so sind Polychromblau und vorhergehende Fixation mit dem Alkoholäthergemisch (für Blut) oder Osmiumsäuredämpfen und absolutem Alkohol (für Gewebe) vorzuziehen.

Zur Färbung der Ernst-Babesschen Körner wandte ich die Methoden von Neisser (essigsäures Methylenblau und Vesuvin), von Piorkowsky (für Diphtheriebacillen vorgeschlagen: Methylenblau nach Loeffler, Entfärbung mit 3-proz. alkoholischer Salzsäurelösung und Nachfärbung mit 1-proz. wässriger Eosinlösung), von Pitfield (4) (dreifache Färbung: Bacillen rot, ihre Enden schwarz, ihre Hülle grau-

braun), von Ficker (für Diphtheriebacillen vorgeschlagen), von Crouch, von Berestneff (für Malaria plasmodien vorgeschlagen) und schließlich mit alter (einjähriger) gesättigter wässriger Methylenblaulösung an. Unter allen von mir erprobten Methoden erwiesen sich mir als die besten: vorhergehende Fixierung des Präparates mit absolutem Alkohol oder mit Osmiumsäuredämpfen, sodann Färbung mit altem Methylenblau¹⁾ oder mit der Farbe von Berestneff.

Vor allem muß man wissen, ob für die Morphologie des Pestmikroben das Alter des Kadavers von Bedeutung ist und ob man einen jeden Kadaver zur Lösung der oben aufgestellten Fragen benutzen kann. Hiermit steht eine andere Frage, die von der Resistenz der Grundformen des Mikroben, eng in Verbindung.

Nimmt man ein eben an der Pest gestorbenes Tier (z. B. nach subkutaner Infektion mit einer Pestkultur), so kann man die Pestmikroben in sämtlichen inneren Organen, in den Lymphdrüsen und im Blute finden (im letzteren in um so größerer Anzahl, je länger das Tier nach der Infektion lebte). Bei entsprechender Fixation und Färbung kann man überall Mikroben sehen, welche mehr oder weniger in die Länge gezogene ovale Form, eine Länge von 0,8—1,5 μ und eine Breite von 0,5—0,8 μ besitzen. Sie färben sich sehr ungleichmäßig; es kommen wohl in ihrer ganzen Länge gefärbte Bacillen vor, die meisten sind jedoch an den Enden stärker gefärbt, während ihr mittlerer Teil schwach oder gar nicht gefärbt ist. Nicht selten verteilt sich die Farbe in der Weise, daß Bezirke innerhalb des Mikrobenkörpers, in der Längsachse desselben, in einiger Entfernung von den Polen oder an den Seitenflächen, an den Enden der Diagonalachsen des Ovals gefärbt erscheinen. Die Mikroben liegen oft zu zweien da und dann kann sich die intensive Färbung an ihrer Berührungsfäche konzentrieren, während die freien Enden ungefärbt bleiben. Die Neigung zur Lagerung in Form von Doppelbacillen ist namentlich in flüssigen Medien, im Blute, in Exsudaten u. s. w., bemerkbar. Neben diesen Formen des Grundtypus kommen, jedoch viel seltener (hier ist überall von frischen Kadavern die Rede), Bacillen, deren Form sich mehr derjenigen einer Kugel nähert, und solche mit ausgezogenen Enden vor. Sowohl die einen als auch die anderen färben sich ungleichmäßig, namentlich die kugelförmigen Kokkobacillen, welche sich zuweilen gar nicht färben (sogenannte „Schatten“) oder in denen sich die Färbung nur am Äquator, an der Peripherie oder den Polen äußert. Kokkenformen kommen am häufigsten in Lymphdrüsen (Bubonen) vor. Bei Formen mit „ausgezogenen Enden“ ist gewöhnlich nur ein Pol zugespitzt, während der andere oval bleibt oder stumpf abgeschnitten erscheint; die Mikroben erinnern dann in ihrem äußeren Anblick an einen Rettig. Die Färbung verteilt sich in dem ausgezogenen Ende entweder gleichmäßig oder ist nur an der Spitze sichtbar oder (was seltener vorkommt) dieser Teil des Mikroben bleibt ganz ungefärbt. Bei aufmerksamer Durchmusterung von gefärbten Präparaten stößt man zuweilen auf Exemplare, welche die oben beschriebenen bedeutend an Größe übertreffen; dieses sind „Riesen“, deren Länge 5—8 μ beträgt. Einige von ihnen zeigen deutlich Spuren von Gliederung, womit sie ihre Entstehung durch Ver-

1) Bei dieser Färbung erhält man vorzügliche Präparate, wenn man das Methylenblau nach Heim anwendet, d. h. eine alte verschimmelte Lösung nimmt, mit dieser im Laufe einiger Sekunden färbt, rasch mit Wasser auswäscht und dann trocknet.

einigung mehrerer Bacillen verraten; andere jedoch stellen ein einziges, nicht zergliederbares Exemplar dar, sind nur an den Polen gefärbt, wobei ihre Dicke bei weitem bedeutender ist als diejenige des normalen Grundtypus. Es ist infolgedessen möglich, daß die Riesenformen nicht nur infolge Vereinigung mehrerer kleiner Exemplare, welche sich nicht voneinander getrennt hatten, sondern auch infolge hypertrophischen Wachstums eines einzigen Individuums entstehen.

Dieses ist das Bild, welches man auf Strichpräparaten aus frischen Kadavern zu sehen bekommt.

Nehmen wir nun einen Kadaver, welcher mehrere Stunden (bis zu 24 Stunden) nach dem Tode an einem kalten Orte gelegen hat. Bei Untersuchung von Strichpräparaten finden wir alle die oben beschriebenen Formen wieder, nur ist ihre quantitative Verteilung eine andere. Vor allem sind in einem solchen Kadaver viel mehr Kokkenformen als im frischen Kadaver zu konstatieren, und dieses namentlich in den Buben. Dasselbe muß von den „geschwänzten“ Formen gesagt werden, außerdem kommen zu diesen noch Exemplare mit abgeschnittenen, zernagten Enden hinzu. In den parenchymatösen Organen herrschen ovale Formen, von denen sich viele bipolar, andere gar nicht färben, vor; je länger der Kadaver gelegen hat, desto mehr ungefärbte Bacillen sind zu konstatieren. Weiter bemerkt man Quellung der Mikrobekörper, welche sich schwach färben. In einem Kadaver, welcher 2–3 Tage bei niedriger Temperatur ($0^{\circ} + 2^{\circ}$) gelegen hat, trifft man zuweilen in den Lymphdrüsen und in der Milz fast ausschließlich nur Kokkenformen mit der ihnen eigenen phantastischen Färbung an. „Riesen“ kommen in alten Kadavern etwas häufiger vor als in frischen (sehr selten in Buben).

Mit der Zeit weicht also der Pestbacillus immer mehr von seinem Grundtypus, dem Kokkobacillus, ab und verrät ausgesprochenen Polymorphismus, namentlich in den parenchymatösen Organen, wobei er seine Kokkenformen in den Lymphdrüsen anhäuft. Muß man nun alle übrigen Formen des Pestmikroben, von der typischen Kokkobacillenform abgesehen, als unter normalen Bedingungen nicht vorkommende Entartungsformen ansehen? Untersuchungen von gar nicht fixierten Strichpräparaten aus noch lebendigen Geweben haben erwiesen, daß in solchen Organen hauptsächlich Kokkobacillen und ovale Formen enthalten sind, während Kokkenformen, geschwänzte Bacillen und „Riesen“ viel seltener vorkommen. Deshalb sind derartige Formen weder als Kunstprodukt infolge Bearbeitung des Präparates noch als anormale Formen zu betrachten, und ist der Polymorphismus des Pestmikroben im lebenden Organismus eine für ihn ebenso charakteristische Erscheinung wie der nämliche Polymorphismus außerhalb des Organismus auf künstlichen Nährböden, nur nimmt er hier nach Ableben der Orgazellen zu.

Indem ich meine 22 Kulturen in Strichpräparaten aus mit ihnen infizierten Tieren verglich, fand ich in allen von ihnen die oben beschriebenen, für Pest typischen Grundformen.

Weder in ihrer Größe noch in ihrer Form und Färbung unterschieden sich die Mikroben auf den Strichpräparaten voneinander. Vielmehr kommen in Strichpräparaten aus der Glasgower Kultur kleinere Exemplare auch häufiger vor als in Strichpräparaten von anderen Kulturen, wie ich das zu wiederholten Malen beobachten konnte, jedoch ist die Größe von Pestmikroben in Strichpräparaten eine sehr unbedeutende und deshalb durchaus nicht von Bedeutung. Bei Färbung auf

Ernst-Babessche Körner konnten dieselben auf Strichpräparaten aus sämtlichen Kulturen nachgewiesen werden. Ein spezifisches Verhalten konnte in dieser Beziehung bei keiner einzigen Kultur konstatiert werden. Indem ich Präparate von Tieren, welche mit Kulturen verschiedenen Virulenzgrades infiziert worden waren, färbte, konnte ich weder in der Quantität noch in der Art der Verteilung der Körner im Mikrobekörper irgend welche Unterschiede feststellen. Dasselbe gilt auch für Präparate, welche aus Kadavern verschiedenen Alters angefertigt worden waren. Fixiert man mit Osmiumsäure und färbt man mit einer alten, gesättigten, wässerigen Methylenblaulösung, so sieht man auf dem matthblau gefärbten Untergrunde des Mikrobekörpers dunkelblaue Körner, die bald an den Polen (je eins), bald im Zentrum des Mikrobekörpers gelagert sind. In Riesenexemplaren kann man eine größere Anzahl solcher Körner zählen. Alle meine Versuche, einen Zusammenhang zwischen diesen Körnern einerseits und der Fortpflanzungsenergie und der Virulenz der Mikroben andererseits ausfindig zu machen, scheiterten vollständig. Zum Studium des feineren Baues der Pestmikroben in Geweben eignet sich ganz besonders die Färbung mit Polychromblau (Fixation mit dem Alkoholäthergemisch oder mit Osmiumsäure). Auf solchen Präparaten kann man nicht selten die verschiedenen Stadien der Mikrobenteilung und die Verteilung der Chromatinsubstanz hierbei beobachten. Viele Mikroben zeigen hierbei folgenden Bau: Der Mikrobekörper ist violett gefärbt, in seinem Zentrum aber, der Längsachse entsprechend, zieht ein stärker gefärbter Streifen hin, welcher, entsprechend den Mikrobenpolen, kolbenförmig aufgetrieben ist; in anderen Mikroben ist der Prozeß der Teilung deutlich zu sehen; der Bacillus ist gleichsam eben erst in einer zur Längsachse perpendicularen Fläche zerschnitten worden, und am intensivsten sind die einander anliegenden Bezirke der beiden Hälften gefärbt. Weiter sieht man gleichsam Ueberbleibsel von Bacillen, welche unregelmäßige Würfelform besitzen und fast ganz gefärbt sind oder an dem einen Ende gefärbte Kurzstäbchen oder endlich typische bipolare Formen.

Aus den Organen von sämtlichen, mit den verschiedenen Kulturen infizierten Tieren fertigte ich Strichpräparate an, die ich dann nach Gram färbte; das Ergebnis dieser Färbung war in allen Fällen ein negatives.

Bei Bearbeitung von aus Organen angefertigten Strichpräparaten zum Zwecke der Kapselfärbung (Dahlia mit Essigsäure) traten die Kapseln in sämtlichen Fällen ohne Ausnahme sehr schön als heller, den violett gefärbten Mikrobekörper umgebender Hof hervor; bei Doppelfärbung (Fuchsin und Methylenblau) konnte auch nicht selten eine schöne Kontrastfärbung erzielt werden. Der Pestbacillus gehört also ohne Zweifel zu den mit Kapseln versehenen Bakterien.

Verhalten der Pestmikroben zu verschiedenen Nährmedien.

Ehe ich zum systematischen Studium von Kulturen bei Züchtung derselben auf verschiedenen Nährmedien schritt, mußte ich die das Wachstum der Pestbacillen am ehesten fördernden Bedingungen kennen lernen. Von diesen Bedingungen erwiesen sich als die wichtigsten die Temperatur, die Reaktion und der Salzgehalt der Nährmedien.

Nachdem ich Nährbouillon und Agaragar von verschiedener Alkalieszenz und Acidität (mit Lackmustinktur bestimmt) und mit verschie-

denem Salzgehalt (NaCl-Zusatz) angefertigt hatte, impfte ich sie mit Pestkulturen. Die geimpften Kolben und Probierröhrchen wurden dann in verschiedenen Höhen im Brütschranke, in welchem die Temperatur zwischen 22° und 37° C schwankte, aufgestellt.

Derartige Vorversuche ergaben, daß das Temperaturoptimum für den Pestbacillus bei 30° liegt, daß die das Wachstum des Bacillus am ehesten fördernde Reaktion der Nährmedien eine schwach alkalische (mit Lackmustinktur bestimmt) ist. Was jedoch den Kochsalzzusatz anbetrifft, so wirkt der gewöhnliche Gehalt dieses Salzes in unseren Nährmedien ($\frac{1}{2}$ Proz.) nicht schädlich auf das Bakterienwachstum ein. Die Pestbacillen erfordern gleichfalls keine reichliche Sauerstoffzufuhr.

Es wurden große, flache, Bouillon enthaltende Kolben mit Pestkultur geimpft, dann durch die einen alltäglich ein Luftstrom getrieben, während die anderen zur Kontrolle dienten. Die verstärkte Luftzufuhr wirkte weder qualitativ noch quantitativ auf die Mikroben ein.

Unter Beachtung aller eben festgestellten Tatsachen züchtete ich Pestmikroben auf folgenden festen und flüssigen Nährmedien: Auf Fleisch-, Kalbs- und Fischbouillon, auf flüssigem Pferde- und Kalbsblutserum, auf Peptonwasser (1 Proz. mit $\frac{1}{2}$ Proz. NaCl), auf Kuh- und Ziegenmilch, auf Kartoffeln, auf Fleisch-, Kalbs- und Fischagarar, auf ebensolcher Gelatine und auf festem Kalbsblutserum. Außerdem wurden den Nährmedien Kochsalz in verschiedenen Proportionen ($\frac{1}{2}$ bis 4 Proz.), Glycerin (1—8 Proz.) und Glykose ($\frac{1}{4}$ —8 Proz.) hinzugesetzt. Die Zubereitung der Nährmedien wurde in der Weise angestellt, daß sämtliche Kulturen zu gleicher Zeit (im Laufe von 1—2 Stunden) auf um ein und dieselbe Zeit zubereitete Nährmedien verimpft werden konnten. Flüssige Kulturen wurden in Kolben (Bouillon, Milch) und Probierröhrchen, feste in Probierröhrchen und auf Platten (Agaragar, Gelatine) studiert. Viele Kulturen (flüssige Bouillonkulturen und feste Agaragar- und Gelatinekulturen) wurden nur von Zeit zu Zeit (im Laufe eines Jahres und länger), andere aber (Milch, Blutserum, Kartoffel) im Laufe von Wochen und Monaten und öfter untersucht. Die Untersuchung (in Bezug auf Färbung, Aussehen, Virulenz) wurde zwecks genaueren Vergleiches in jeder Serie von Kulturen zu gleicher Zeit ausgeführt.

Bouillonkulturen.

Die Nährbouillon (aus Rind-, Kalb- oder Fischfleisch zubereitet) wurde in gleich große (300 ccm fassende), enghalsige Kolben und Probierröhrchen verteilt und mit den als Ausgangsmaterial dienenden Agarkulturen geimpft. Hiernach wurde sie auf einige Zeit (bis zu 2 bis 3 Monaten) in den Brütschrank gestellt und dann bei 15—18° C aufbewahrt. Serien von Nährbouillonimpfungen wurden im Mai 1902 (9 Kulturen), im Juli 1902 (13 Kulturen) und im Oktober 1902 (22 Kulturen) angelegt, die erste Serie im Laufe von 13 Monaten (bis zum Juni 1903), die zweite im Laufe von 11 Monaten und die dritte im Laufe von 8 Monaten untersucht. Der kürzeste Termin der Untersuchung der Kulturen betrug 8 Stunden; um diese Zeit konnte mikroskopisch das Wachstum des Mikroben nachgewiesen werden.

Beim Vergleiche von Kulturen, welche auf Nährbouillon von verschiedener Zubereitung angelegt worden waren, erwies sich die aus Kalbfleisch hergestellte Nährbouillon als die für das Wachstum der Mikroben am besten geeignete. Das üppigste Wachstum derselben konnte

in Kalbsbouillon beobachtet werden, weniger üppig war es in Fleischbouillon und am spärlichsten in Fischbouillon. Ich mochte als Impfmateriel von meinen ursprünglichen Kulturen nehmen, welche ich wollte, immer gediehen sie am besten auf Kalbsbouillon; deshalb wandte ich später mit Vorliebe Kalbsbouillonkulturen an. (Forts. folgt.)

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis des Bacillus des malignen Oedems.

[Aus der bakteriologischen Abteilung des Hygiene-Institutes der Universität Zürich. Vorstand: Privatdozent Dr. W. Silberschmidt.]

Von **Ernst Bachmann**, prakt. Arzt,
ehemaligem Assistenten am Institut, zur Zeit Assistenzarzt an der med. Klinik Zürich.
(Schluß.)

II. Agglutinationsversuche.

a) Vorbehandlung der Tiere.

Zur Ausführung der nachfolgenden Untersuchungen wurden im ganzen geimpft vom malignen Oedemstamme A 3 Meerschweinchen, 1 Kaninchen, Stamme B 1 Kaninchen, Stamme C 1 Meerschweinchen, Stamme D 1 Meerschweinchen, Bacillus Ghon und Sachs 1 Meerschweinchen, Rauschbrandbacillus 1 Meerschweinchen.

Zu Injektionen wurden Agarkulturen und verflüssigte Gelatinekulturen verwendet. Alle Aufschwemmungen aus Agarkulturen wurden so hergestellt, daß der Agar aus den Röhrchen in eine sterile Petrischale geschüttelt, dann mit einer sterilen Schere möglichst fein zerhackt, Bouillon zugesetzt und vor dem Impfen etwas stehen gelassen wurde.

Die Impfungen wurden vorgenommen wie folgt:

Stamm A malignes Oedem. Wie weiter oben angegeben wurde, sind am 14. Dez. 1903 3 Meerschweinchen von 320—350 g subkutan, intramuskulär bzw. intraperitoneal geimpft worden. Da die erste Dose von 5 ccm Aufschwemmung einer 3-tägigen Agarkultur anstandslos ertragen worden war, wurden die Tiere am 21. Dez. in gleicher Weise mit je 2 ccm einer 10-tägigen verflüssigten Gelatinekultur geimpft.

Am 7. Jan. 1904 erfolgte eine Injektion von je 3 ccm einer Aufschwemmung einer 18-tägigen Gelatinekultur.

Am 15. Jan. 1904 bekamen die Tiere je 5 ccm Aufschwemmung einer 25-tägigen Agarkultur.

Am 19. Febr. 1904. Injektion der 3 Tiere mit je 5 ccm Aufschwemmung einer 3-tägigen Agarkultur.

Die 3 Meerschweinchen haben somit innerhalb zweier Monate 5 Injektionen verschiedener Kulturen des Stammes A erhalten.

29. Dez. 1903. Kaninchen, 2100 g, wird subkutan am Bauch mit 5 ccm Aufschwemmung einer 9-tägigen Agarkultur geimpft, ohne irgendwelche Reaktion. Die Injektionen mit gleichen Dosen werden wiederholt am 16. Jan. 1904 mit einer 48-stündigen Agarkultur, und am 27. Jan. mit einer 10-tägigen Agarkultur.

Das Tier bleibt gesund ohne Gewichtsabnahme bis zum 4. April 1904. Am 6. April geht das Tier an einer interkurrierenden Pneumonie zu Grunde.

Stamm B malignes Oedem. Am 22. Jan. wird ein Kaninchen, 1800 g, mit 2 ccm Aufschwemmung einer 20-stündigen Agarkultur geimpft. Die zu impfende Menge wurde vorerst in einem sterilen Reagenzglas $\frac{1}{4}$ Stunde ins kochende Wasser gehalten und nach erfolgter Abkühlung subkutan am Bauch eingespritzt.

Am 3. Febr. bekommt das Tier 5 ccm der in gleicher Weise vorbehandelten Aufschwemmung einer 48-stündigen Agarkultur, und eine dritte Impfung erfolgt am 27. Febr.

Da sämtliche Agglutinationsversuche immer negativ ausfallen, wird das Tier am 23. April wieder geimpft, und zwar diesmal mit $\frac{1}{2}$ ccm Aufschwemmung einer 18 Tage alten, aber nicht erhitzten Agarkultur. Schon am Tage darauf in der Gegend der Injektionsstelle erhebliche Schwellung, die am nächsten Tage noch zunimmt bis zur Größe einer kleinen Faust. Die Geschwulst ist schwappend. Doch das Oedem wird resorbiert und nach 6 Tagen sind nur noch einige derbe Stränge zu fühlen.

Stamm C malignes Oedem. Am 24. Jan. erhält 1 Meerschweinchen, 450 g, 1 ccm Aufschwemmung einer 40-stündigen Agarkultur subkutan am Bauch injiziert. Die Dosis wird gut ertragen.

Die Injektionen werden mit gleichen Dosen wiederholt am 5. Febr. 1904 mit einer 24-stündigen Agarkultur und am 18. Febr. mit einer 3-tägigen Agarkultur.

Stamm D malignes Oedem. 5. Febr. Meerschweinchen, 360 g, wird mit 1 ccm Aufschwemmung einer 24-stündigen Agarkultur subkutan am Bauch injiziert, nachdem vorerst analog dem Vorgehen bei B die Aufschwemmung $\frac{1}{4}$ Stunde ins kochende Wasser gehalten wurde. Wiederholungen der Impfungen mit gleichen Dosen und gleich alten Kulturen am 26. Febr. und am 10. März ohne jegliche Reaktion.

Bacillus Ghon und Sachs. 5. Febr. Meerschweinchen, 450 g, erhält 1 ccm Aufschwemmung einer 24-stündigen Agarkultur subkutan am Bauch eingespritzt. Wiederholung der Impfungen mit gleichen Dosen und gleich alten Kulturen am 19. Febr. und am 5. März. Keine Reaktion.

Rauschbrandbacillus. 8. Febr. Meerschweinchen, 400 g, wird mit 1 ccm einer $\frac{1}{4}$ Stunde abgekochten Aufschwemmung einer 48-stündigen Agarkultur injiziert. Wiederholung der Impfungen in gleicher Weise mit gleichen Dosen am 18. Febr. und am 5. März.

Alle geimpften Tiere haben während der Versuchsperiode an Gewicht zugenommen.

b) Ausführung der Agglutinationsversuche.

Trotz der zahlreichen Versuche konnte eine sichere und möglichst günstige Methode zur Agglutinationsprüfung anaërober Bakterien nicht gefunden werden. Sämtliche Autoren geben an, daß die Bacillen im hängenden Tropfen schon nach ziemlich kurzer Zeit ihre Beweglichkeit einbüßen, eine Tatsache, die wir leider nur bestätigen können. Immerhin waren in unseren Kontrollpräparaten der Stämme A, C und E malignes Oedem die Bacillen zuweilen nach 2 Stunden noch ordentlich beweglich. Meistens ging aber die Beweglichkeit nach 10–20 Minuten verloren, ohne daß dadurch in der Regel die Häufchenbildung stark beeinflusst worden wäre.

Anfänglich wurden für unsere Versuche Agar-, Pyrogallus- und Schwefelnatriumkulturen benutzt, die nie älter als 12–24 Stunden waren. Die Aufschwemmungen aus anaëroben Agarkulturen werden unwillkür-

lich durch Bestandteile des festen Nährbodens verunreinigt. Unsere Aufschwemmungen wurden aber zur Abkürzung der aeroben Herstellung von Präparaten nie filtriert und da die Agarkulturen sonst keine Vorteile boten gegenüber den Na_2S -Kulturen, wurden sie wieder aufgegeben. Die Pyrogalluskulturen ergaben auch keine günstigeren Resultate als die Schwefelnatriumkulturen, und so fanden denn bei den anzugebenden Versuchen ausschließlich diese letzteren Verwendung.

Als Flüssigkeit zur Aufschwemmung dienten gewöhnliche Bouillon oder 0,8-proz. sterile Kochsalzlösung. Welche von beiden zur Anwendung kam, erwies sich für die Höhe der Agglutinationsversuche als vollständig irrelevant; denn es wurden die gleichen Resultate mit beiden Arten von Aufschwemmung gefunden. In der Bouillon blieben zwar die Bacillen etwas länger beweglich, dafür war in den Kochsalzaufschwemmungen die Gefahr der Pseudohäufchen eine geringere. Bei einigen Versuchen wurde den Aufschwemmungen noch eine bestimmte Menge Na_2S zugesetzt, doch blieben die Resultate betreffs Beweglichkeit dieselben. Im übrigen war die Ausführung der Versuche genau dieselbe, wie bei der Widalschen Typhusreaktion.

Wir führen diese Details an, weil wir eine große Zahl von Versuchsreihen ausschalten mußten wegen eingetretener vollständiger oder unvollständiger Agglutination in den Kontrollpräparaten, ohne daß wir die Fehlerquelle ausfindig machen konnten. Der Uebelstand wurde meistens gehoben durch Benutzung möglichst junger Kulturen und stark verdünnter Aufschwemmungen. Bei Verdünnungen über 1:100 wurde das Serum mit gewöhnlicher Bouillon vorerst um das 10fache verdünnt. Eine wiederholt gemachte Beobachtung war die schlechte Agglutinierbarkeit der mehrmals und längere Zeit in Na_2S nach Trenkmann gezüchteten Bacillen. Sobald von Zeit zu Zeit die Reihe der Na_2S -Kulturen durch eine Agarkultur unterbrochen wurde, war der Uebelstand gehoben. Die fertigen Präparate kamen immer für 2 Stunden in den Brutschrank, nach welcher Zeit sie zum ersten Male nachgesehen wurden, um eventuell nachher nochmals hineingestellt zu werden. Im allgemeinen wurden die Untersuchungen nach 2—4 Stunden abgeschlossen. In zweifelhaften Fällen, wo Andeutung vorhanden war, blieben die Präparate bis 24 Stunden in Beobachtung. Sehr selten hat sich aber das Resultat noch nach Ablauf von 4—6 Stunden geändert. Es fanden für die später angegebenen Resultate nur diejenigen Versuche Berücksichtigung, deren Kontrollpräparate keine Andeutung von Agglutination zeigten.

Um das für die Versuche nötige Serum zu erhalten, wurde den Tieren Blut auf möglichst sterile Weise aus den Ohrvenen entnommen durch Reinigen des Ohrläppchens mit Alkohol und Aether und Ausglühen der zum Einstecken benutzten Nadel. Das in sterile, gerade Pipetten aufgesogene Blut wurde zentrifugiert und das erhaltene Serum in der Regel sofort benutzt. Aelter als 2—3 Tage war das Serum nur in vereinzelten Fällen, ohne daß dabei ein merklicher Unterschied in den Resultaten zu konstatieren gewesen wäre.

Neben den mikroskopischen wurden auch einige makroskopische Agglutinationsversuche angestellt. Zur Ausführung wurden Röhrchen gebraucht, wie sie Ficker für seine makroskopische Typhusagglutination angibt. Zu Aufschwemmungen wurde physiologische 0,8-proz. Kochsalzlösung benutzt, weil bei schwacher Reaktion die Trübung deutlicher zu Tage tritt als in Bouillon. Die Röhrchen wurden im Dunkeln bei Zimmertemperatur aufbewahrt und nach ungefähr 20 Stunden geprüft.

Da die Resultate dieser Methode weit hinter denjenigen der anderen zurückblieben, wurde sie nicht regelmäßig ausgeführt.

c) Resultate der Agglutinationsversuche.

1. Prüfung der Agglutination der Stämme mit positivem Resultat.

Stamm A malignes Oedem. Meerschweinchenserum: 5 Tage nach der ersten Impfung am 14. Dezember 1903 war bereits ein positives Resultat zu konstatieren. Meerschweinchen 1, subkutan geimpft, gab einen Agglutinationswert von 1:100 positiv; Meerschweinchen 2 intraperitoneal geimpft, einen solchen von 1:70 positiv und Meerschweinchen 3 intramuskulär geimpft, einen solchen von 1:50 positiv. Mehrere Prüfungen mit Serum vom 8. Tage nach der Injektion ergaben dieselben Resultate. 2 Tage nach der zweiten Impfung am 21. Dezember war der Agglutinationswert bei Meerschweinchen 1 schon gestiegen bis 1:200 positiv. Auch die Seren der anderen zwei Tiere blieben nicht wesentlich hinter diesem Werte zurück, und nach der dritten Impfung war die agglutinierende Kraft aller drei Seren gleich groß. Von Zeit zu Zeit wurde auch später die Untersuchung dieser Seren getrennt durchgeführt und immer deckten sich die erhaltenen Werte annähernd, so daß wir von da an bei den weiteren Versuchen bald Blut des einen, bald des anderen benutzten.

3 Tage nach der dritten Impfung am 7. Januar 1904 erhielten wir Agglutinationsversuche von 1:1000 positiv, 1:2000 Andeutung, 1:5000 negativ. Nachdem auch nach der vierten und fünften Impfung sich immer genau dieselben Werte ergaben, wurde mit den Injektionen aufgehört. Das Meerschweinchenserum behielt seine Agglutinationskraft in gleicher Stärke bei bis im Mai, d. h. drei Monate lang nach der letzten Impfung.

Dem Kaninchen wurde 7 Tage nach der am 29. Dezember stattgehabten Impfung zum ersten Male Blut entzogen, und das Serum erwies sich viel wirksamer als das der Meerschweinchen; schon jetzt erhielten wir Höchstwerte von 1:20 000. Die Agglutinationskraft steigerte sich nicht im Laufe der weiteren Injektionen. Zur Kontrolle der gemachten Untersuchungen wurden von Zeit zu Zeit Versuche angestellt mit Serum nicht geimpfter Meerschweinchen und Kaninchen, die immer negativ ausfielen.

Merkwürdig ist, daß bei den vorgenommenen makroskopischen Agglutinationen keine besseren Resultate erzielt wurden mit dem hochwertigen Kaninchenserum, trotzdem die Untersuchungen häufig wiederholt wurden. Bei den Streptokokken z. B. wird sehr oft makroskopisch in höheren Verdünnungen agglutiniert als mikroskopisch. Nach 20 bis 40 Stunden stiegen unsere positiven Werte nie höher als 1:50, hier und da 1:100. Vielleicht hängt dies mit der Art der Aufschwemmung zusammen.

Stamm C malignes Oedem. Nachdem am 21. Januar ein Meerschweinchen geimpft worden war, wurde nach 5 Tagen zum ersten Male Blut entzogen, und es ergab sich 1:30 positiv, die anderen Verdünnungen alle negativ. Einige Tage nach der zweiten Impfung am 5. Febr. hatte die agglutinierende Kraft des Serums bereits ihren Höhepunkt erreicht in Verdünnungen von 1:2000 positiv, 1:5000 negativ; denn auch nach den weiteren Impfungen stieg der Wert nicht mehr.

Makroskopische Versuche wurden nicht angestellt.

Prüfung der Agglutination heterologer Stämme.

Nachdem die Agglutination der Sera gegenüber ihren eigenen Stämmen geprüft worden war, wurde untersucht, ob und in wie weit die betreffenden Seren andere Stämme zu agglutinieren vermochten.

Zu den bei der Vorbehandlung der Tiere erwähnten Stämmen kommen noch weitere zwei hinzu, für welche keine Tiere geimpft, die aber bei diesen vergleichenden Studien miteinbezogen wurden. Es sind das Stamm E malignes Oedem und *Bacillus phlegmones emphysematosae* Eug. Fraenkel.

Stamm A malignes Oedem.

1) Mit Serum C malignes Oedem. 5 Tage nach der ersten Impfung des Tieres C am 21. Januar begannen die Versuche mit Kultur A, doch immer mit negativem Resultat. Nach der zweiten Injektion am 5. Februar vermochte das gewonnene Serum A zu agglutinieren in Verdünnungen 1:10, 1:20, 1:30, aber nicht höher. Auch nach den späteren Impfungen blieben die Werte sich gleich 1:30 positiv, 1:50 Andeutung, 1:100 negativ, also ein ganz erheblicher Unterschied gegenüber dem eigenen Stamm, welcher noch bei 1:2000 agglutiniert wurde.

2) Mit Serum B. Nach den zwei Impfungen vom 22. Januar und 5. Februar verhielt sich dieses Serum negativ, hie und da Andeutung von Agglutination in Verdünnungen 1:10, 1:20. Nach der dritten Impfung, auf welche das Kaninchen so stark reagiert hatte, wurde Stamm A agglutiniert in Verdünnungen 1:10, 1:20, 1:30 deutlich und wiederholt.

Makroskopische Agglutinationsversuche sowohl mit Stamm C als auch mit Stamm B und Stamm A ergaben keine Resultate.

3) Die Seren der übrigen drei Stämme: D malignes Oedem, Ghon und Sachs, Rauschbrand hatten keine Wirkung auf Stamm A. Nach jeder Impfung wurden mehrfache Prüfungen vorgenommen.

Stamm C malignes Oedem.

1) Mit Meerschweinchenserum A. Nach der ersten Impfung am 14. Dezember 1903 vermochte das Serum der drei Meerschweinchen den Stamm C nicht zu agglutinieren. Erst nach der zweiten Injektion erhielten wir positive Werte in Verdünnungen von 1:10 bis 1:100. Höher hinauf stieg das Agglutinationsvermögen nie, wie die häufigen Nachuntersuchungen zeigten.

2) Mit Kaninchenserum. 7 Tage nach der ersten Impfung am 29. Dezember agglutinierte das Kaninchenserum Kulturaufschwemmung A bereits bis 1:50 und nach 10 Tagen bis 1:500, um später nicht mehr zu steigen.

Makroskopische Agglutinationsversuche mit Kaninchenserum A fielen in Verdünnungen bis 1:30 positiv aus, 1:50 negativ.

3) Von den anderen Seren war einzig bei Stamm B hie und da in Verdünnungen von 1:10 Agglutination vorhanden, meistens bestand bloß Andeutung.

Vergleichen wir die Stämme malignes Oedem A und C, so fällt uns auf, daß das Serum von C, welches seinen eigenen Stamm bis 1:2000 zur Agglutination brachte, mit Stamm A Agglutinationswerte lieferte bis 1:30, während Meerschweinchenserum A, welches seinen eigenen Stamm nur bis 1:1000 agglutinierte, mit Stamm C noch in Verdünnungen von 1:100 ein positives Resultat ergab.

Stamm E malignes Oedem. Am 16. März wurden die Untersuchungen begonnen.

1) Durch Kaninchenserum A wurde Stamm E agglutiniert in Verdünnungen 1:500 positiv und 1:1000 Andeutung.

2) Meerschweinchenserum A lieferte positive Werte mit Stamm E bis 1:30, 1:50 Andeutung, 1:100 negativ.

3) Serum C brachte diesen Stamm zur Agglutination in Verdünnungen von 1:50, 1:100 Andeutung.

4) Die Agglutinationskraft von Serum B (Kaninchen) war bis zur dritten Impfung 1:100 positiv, 1:200 negativ. Nach der dritten Injektion stieg das Vermögen bis 1:500 positiv, 1:1000 negativ.

5) Versuche mit den Seren der übrigen Stämme blieben erfolglos.

Aus diesen Angaben geht hervor, daß Stamm E die besten Resultate aufzuweisen hat. Leider wurde kein Tier mit diesem Stamm vorbehandelt.

Zu Vergleichszwecken wurde am Schlusse noch eine Versuchsreihe von Agglutinationen gemacht mit *Bacillus phlegmones emphysematosae* Fraenkel, die vollständig negativ verlief.

2. Prüfung der Stämme mit negativem Resultat.

Es sind dies die Stämme B und D malignes Oedem, *Bacillus Ghon* und *Sachs* und der *Rauschbrandbacillus*, die auch kulturell große Ähnlichkeit miteinander aufweisen.

B und D sind die stark virulenten Oedemstämme, von denen wir eigentlich in erster Linie positive Resultate bei den Agglutinationsprüfungen erwartet hätten. Man wird uns vielleicht den Vorwurf machen, die Tiere seien zu wenig geimpft worden. Die anderen Stämme haben schon nach der ersten Impfung wirksames Serum geliefert. Von allen Tieren hat keines eine so starke Reaktion gezeigt, wie das Kaninchen B nach der dritten Impfung, und doch blieb das Serum vollständig unwirksam gegenüber seinem eigenen Stamm, nicht aber gegenüber A und E malignes Oedem. Zumal die dritte Impfung mit vollvirulentem Material bei B wieder nichts gezeigt hatte, wurden beiden anderen Tieren die Impfungen aufgegeben. Die Technik der Versuche war immer die gleiche für alle Stämme; ob vielleicht der sehr beschränkten Beweglichkeit dieser Stämme das negative Resultat zuzuschreiben ist, wissen wir nicht.

Wir können nur betonen, daß diese Stämme sowohl von ihren eigenen Seren wie von denen der anderen Stämme niemals agglutiniert wurden weder mikroskopisch noch makroskopisch.

Am 24. Februar warf Meerschweinchen C zwei Junge. 2 Tage nachher wurde den Tieren Blut aus den Ohren entnommen. Mit dem wenigen Serum bekamen wir Agglutinationswerte bis 1:50 positiv. Am 6. Tage wird ein Tier getötet und das Blut aus dem Herzen aspiriert. Mit diesem Serum gemachte Versuche brachten den Stamm C in Verdünnungen bis 1:500 zur Agglutination. Ein Versuch mit Muttermilch fünf Tage nach der Geburt fiel negativ aus.

Die spärlichen Agglutinationsversuche, welche mit den aus Berlin erhaltenen Stämmen angestellt wurden, führten nicht zu einem verwertbaren Resultate. Einige Male war eine geringe Agglutination mit Stamm A und C zu konstatieren, meistens aber waren die Kontrollpräparate nicht eindeutig.

Zur besseren Uebersicht sind in beiliegender Tabelle die Agglutinationsresultate zusammengestellt worden.

Zusammenstellung der Resultate der Agglutinationsversuche.

Stämme	A	C	E	B	D	Bacillus Ghon und Sachs	Rauschbrandbacillen	Bacillus phlegmones emphysematosae
A Kaninchenserum	1:20 000 +	1:500 +	1:500 + 1:1000 <	—	—	—	—	—
A Meerschweinchenserum	1:1000 + 1:2000 < ¹⁾	1:100 +	1:30 + 1:50 <	—	—	—	—	—
C Meerschweinchenserum	1:30 + 1:50 <	1:2000 +	1:50 + 1:100 <	—	—	—	—	—
B Kaninchenserum	1:30 +	1:10 <	1:500 +	—	—	—	—	—
D Meerschweinchenserum	—	—	—	—	—	—	—	—
Bac. Ghon und Sachs Meerschweinchenserum	—	—	—	—	—	—	—	—
Rauschbrandbacillus Meerschweinchenserum	—	—	—	—	—	—	—	—

d) Präzipitationsversuche.

Die Präzipitation wurde zum ersten Male von Kraus beschrieben. Nach ihm wurden dabei gelöste Bakterienstoffe in den Kulturfiltraten durch die entsprechenden Seren zum Ausfällen gebracht. Die einen Autoren behaupten, daß die Präzipitation mit der Agglutination nichts zu tun habe, und die anderen glauben, daß beide Vorgänge ihrem Wesen nach nahe verwandt, wenn nicht überhaupt identisch sind.

Es lag nahe, neben den Agglutinationsversuchen auch einige Präzipitationsversuche anzustellen. Zur Ausführung dienten wieder die Fickerschen Röhrchen. Die Kulturen, welche zur Verwendung kamen, hatten fast alle mindestens drei Wochen im Brutschrank gestanden. Zur Erhaltung eines klaren Filtrates wurden sie $\frac{1}{2}$ Stunde zentrifugiert und dann der klare Teil durch Papierfilter filtriert. Die Aufschwemmungen wurden sowohl mit Bouillon wie mit Kochsalz gemacht. Die Beobachtungszeit erstreckt sich über 1—3 Tage.

Unter den Stämmen, die ein positives Resultat mit ihren entsprechenden Seren lieferten, steht A malignes Oedem obenan mit einer Niederschlagsbildung in Verdünnungen von 1:50; dann kommt C malignes Oedem mit einem positiven Wert von 1:30. Bacillus Ghon und Sachs, der allen Agglutinationsversuchen trotzte, lieferte hier ein deutlich positives Resultat in Verdünnungen von 1:5, 1:10, 1:20.

Vergleichende Versuche von Filtraten des einen Stammes mit Serum eines anderen fielen negativ aus.

Prüfung der Widerstandsfähigkeit vorbehandelter Tiere gegenüber anderen Stämmen.

Um zu prüfen, ob die Vorbehandlung der Tiere mit den erwähnten Stämmen, speziell solcher, welche sich als nicht virulent erwiesen hatten,

1) < = Andeutung.

eine Immunität gegenüber den virulenten hervorgerufen habe, wurden die längere Zeit vorbehandelten Tiere nachträglich mit Stamm B und D injiziert.

Am 5. Mai wurden einem Meerschweinchen, das mit Stamm A malignes Oedem geimpft worden war, 0,5 ccm Aufschwemmung einer 48-stünd. Agarkultur von Stamm B malignes Oedem subkutan am Bauche eingespritzt. Das Meerschweinchen starb in der folgenden Nacht. Die Sektion zeigte alle Zeichen des malignes Oedems. Ein gleichzeitig geimpftes Kontrolltier starb zur selben Zeit.

Ein gleicher Versuch, ausgeführt am 8. Juli, hatte denselben Erfolg.

Ein weiter Meerschweinchen A wurde geimpft mit 2 ccm Aufschwemmung einer 48-stündigen Agarkultur von Stamm B malignes Oedem. Das Tier starb ebenfalls innerhalb 12 Stunden und zeigte wiederum kein Hautödem, sondern nur ein mächtiges peritoneales und pleuritisches Exsudat.

Das mit *Bacillus Ghon* und *Sachs* vorbehandelte Meerschweinchen bekommt 1 ccm Aufschwemmung einer 48-stündigen Agarkultur von Stamm D malignes Oedem. Tod nach 14 Stunden.

Das Meerschweinchen, vorbehandelt mit dem *Rauschbrandbacillus* aus Paris, wird injiziert mit 2 ccm Aufschwemmung einer 48-stündigen Agarkultur von Stamm B malignes Oedem und macht unter den Erscheinungen des malignen Oedems nach 20 Stunden Exitus.

Wie aus diesen Versuchen ersichtlich ist, war eine Vorbehandlung mit Stamm A malignes Oedem, *Bacillus Ghon* und *Sachs* und *Rauschbrandbacillus* Paris nicht im stande, die Tiere gegen die pathogenen Stämme B und D malignes Oedem zu schützen.

III. Schlußbetrachtungen.

Der Hauptzweck unserer Arbeit war, die Frage zu prüfen, ob verschiedene, unter dem Namen *Bacillus* des malignen Oedems bezeichnete Bacillen sich identifizieren und ob vielleicht noch andere Bacillen sich hier anreihen ließen. Zur Lösung dieser Aufgabe haben wir die Agglutination herbeigezogen, über die wir in der Literatur nur sehr spärliche Angaben finden. *Leclainche* und *Vallée* haben Versuche angestellt mit *Vibrio septique* und *Rauschbrand* und Agglutination gefunden in Verdünnungen 1:3000, dabei die Bemerkung anschließend: „Les propriétés agglutinantes paraissent vigoureusement spécifiques.“ Ferner finden wir in der jüngst erschienenen Arbeit von *Kamen* Ausführungen über Agglutination. Zur Differentialdiagnose ist jedoch das Agglutinationsphänomen nicht verwertet worden.

Die Zahl unserer verglichenen Stämme ist allerdings keine große; wir glauben aber doch, auf Grund der mitgeteilten Resultate einige Schlußfolgerungen ziehen zu dürfen.

Die 5 Stämme des *Oedembacillus* lassen sich ihren morphologischen, kulturellen und tierpathogenen Eigenschaften nach in zwei Gruppen einteilen.

Die Agglutinationsversuche haben ergeben, daß die drei Stämme der ersten Gruppe A, C, E trotz der großen Ähnlichkeit in ihrem übrigen Verhalten in Bezug auf Agglutination Unterschiede erkennen lassen.

Die Stämme A und C zeigten deutliche Agglutination mit dem homologen Serum. Während das mit Stamm A vorbehandelte Kaninchen den eigenen Stamm bis zu einer Verdünnung von 1:20000 agglutinierte, war das Titre für die zwei anderen Stämme C 1:100, E 1:500.

Das Serum C agglutinierte A in Verdünnungen 1:30 und E 1:30, seinen eigenen Stamm aber 1:2000.

Dürfen wir auf Grund dieser Befunde die drei Stämme trennen? Die Frage läßt sich nach bei anderen Bacillen gemachten Erfahrungen zur Zeit nicht mit aller Bestimmtheit beantworten. Es ist bekannt, daß Typhusstämmen verschiedener Herkunft von ein und demselben Typhusserum in verschiedener Weise agglutiniert werden. Es ist aber auch festgestellt worden, daß stark agglutinierende Typhussera nicht nur Typhus, sondern auch die sogenannten Paratyphen und andere ähnliche Arten bis zu einem gewissen Grade zu agglutinieren vermögen.

Ein ähnliches Verhältnis liegt hier vor.

Wenn wir somit die drei erwähnten Stämme von malignem Oedem nicht mit Bestimmtheit identifizieren können, so sprechen sowohl die morphologischen und kulturellen Eigenschaften wie auch die Agglutinationsprüfung für eine nahe Verwandtschaft derselben.

Anders verhält es sich mit den übrigen zur Untersuchung herangezogenen Stämmen. Von Anfang an verhielten sich B und D verschieden von den besprochenen Stämmen, und diese Verschiedenheit ist auch durch die Agglutinationsprüfung bestätigt worden. Immerhin mag der merkwürdige Befund der Agglutination von E durch Serum B in Verdünnungen von 1:500 erwähnt werden. Bestimmte Schlußfolgerungen möchten wir aber diesem einzigen allerdings wiederholt geprüften Resultaten nicht entnehmen.

Der von Ghon und Sachs isolierte Bacillus läßt sich nach den erhaltenen Resultaten nicht mit der ersten Gruppe identifizieren. Gegenüber den Stämmen B und D zeigte derselbe einige Unterschiede. Die Agglutinationsprüfungen sind bei diesen drei Stämmen B und D malignes Oedem und Bacillus Ghon und Sachs negativ ausgefallen, lassen also keine weiteren Schlüsse zu.

Die Präzipitationsversuche haben uns auch keine weiteren Anhaltspunkte geliefert. Das stark agglutinierende Kaninchenserum A und ebenso das Meerschweinenserum C haben nur geringe Präzipitationserscheinungen aufgewiesen.

Bezeichnend für den jetzigen Stand der uns beschäftigenden Frage ist der von Ghon und Sachs eingenommene Standpunkt. Nachdem die Autoren, wie oben angeführt, ihren Mikroorganismus nicht genau identifizieren konnten mit dem Bacillus des malignen Oedems, machen sie jetzt am Ende ihrer Arbeit den Vorschlag, diesen ihren Bacillus als den eigentlichen Bacillus des malignen Oedems hinzustellen und identifizieren ihn sogar mit dem *Vibrio septique Pasteurs*. Von den als Oedembacillen bezeichneten Mikroorganismen erkennen sie eine ganz Anzahl als Oedembacillen an, währenddem sie andere, so z. B. die von Silberschmidt und Albrecht beschriebenen Bacillen, der zweiten Gruppe nach Graßberger und Schattenfroh zuteilen. Silberschmidt gegenüber halten sie an dem Standpunkt fest, daß vorläufig noch an der Tierpathogenität als differentialdiagnostischem Merkmal festgehalten werden müsse. Aus diesem Grunde gehören die erwähnten Bacillen zu den fäulnisregenden Buttersäurebacillen nach Grassberger und Schattenfroh. Merkwürdig ist, daß auf der einen Seite die Tierpathogenität und auf der anderen Seite die Buttersäurebildung Verwendung findet für die Einteilung. Silberschmidt betont wiederholt in seiner Arbeit, daß sowohl die Bezeichnung Bacillus des malignen Oedems als auch diejenige des Buttersäurebacillus Sammelbegriffe dar-

stellen, und daß die betreffenden Bacillen beim Menschen nur unter bestimmten prädisponierenden Momenten, vor allem nach schweren Gewebsläsionen verbunden mit Zirkulationsstörungen, pathogen wirken können.

Mit dem Vorschlag von Ghon und Sachs, ihren Bacillus als den Repräsentanten des Bacillus des malignen Oedems hinzustellen, erscheint uns die Oedemfrage noch lange nicht erledigt. Wenn wir die Kulturen unserer zweiten Gruppe B und D mit den Kulturen des Rauschbrandes vergleichen, so gelingt es nicht, auf Grund der morphologischen, kulturellen und tierpathogenen Eigenschaften eine Differenzierung dieser Mikroorganismen durchzuführen. Auch die Agglutinationsprüfung hat uns im Stich gelassen.

Betrachten wir übrigens die differentiellen Merkmale, welche von Lehmann und Neumann zwischen Rauschbrand und malignem Oedem angegeben werden, so fällt uns auf, daß der üble Geruch für malignes Oedem verwertet wird, währenddem gerade die Kulturen des Bacillus von Ghon und Sachs sowie die von B und D nicht den typisch stinkenden Geruch zeigen, wie dies bei den Stämmen A, C, E der Fall ist.

Ghon und Sachs geben zu, daß bei Krankheitsprozessen, welche klinisch und pathologisch-anatomisch dasselbe Bild bedingen, verschiedene Mikroorganismen beschrieben worden sind. Es ist ihnen selbst nicht eingefallen, unwesentliche Differenzen in den klinischen und pathologisch-anatomischen Befunden als Unterscheidungsmerkmale hinzustellen, um so weniger erscheint es berechtigt, nur einem bestimmten Mikroorganismus die Benennung Bacillus des malignen Oedems zu geben.

Es ist möglich, daß der Bacillus von Silberschmidt, welcher nicht bei Reininfektion, sondern das eine Mal vermisch mit *Bacterium coli*, das andere Mal mit Streptokokken gefunden wurde, allein nicht pathogen gewirkt hätte; aber da, wie die sorgfältige Untersuchung ergeben hat, ein anderer anaërober Mikroorganismus nicht vorhanden war, so darf man in diesem Falle doch annehmen, daß das typische Krankheitsbild der *Gangrène foudroyante* nicht dem *Bacterium coli* oder dem *Streptococcus*, sondern dem Anaëroben bzw. beiden zusammen zugeschrieben werden muß.

Unsere Ergebnisse können ungefähr in folgende Sätze zusammengefaßt werden:

1) Die von uns zur Untersuchung herangezogenen 5 Stämme von Bacillus des malignen Oedems lassen sich in zwei Gruppen einteilen.

Die einen, A, C und E, sind deutlich beweglich, übelriechend, Blutserum rasch verflüssigend, nicht virulent; die anderen, B und D, sind nicht so deutlich beweglich, nicht übelriechend, das Blutserum langsam verflüssigend und virulent.

2) Durch Injektion von Kaninchen und Meerschweinchen mit den Stämmen der ersten Gruppe ist es gelungen, Sera zu erhalten, welche den eigenen Stamm agglutinieren und zudem ein schwächeres, agglutinierendes Vermögen besitzen gegenüber den anderen Stämmen der ersten Gruppe.

3) Die Injektionen der Stämme der zweiten Gruppe haben hingegen kein deutlich agglutinierendes Serum geliefert gegenüber dem eigenen Stamm. Einzig das Serum von B vermag die Stämme der ersten Gruppe zu agglutinieren A 1:30, B andeutungsweise, E 1:500.

4) Der von Ghon und Sachs isolierte Bacillus lehnt morphologisch und kulturell stark an die beiden Stämme der zweiten Gruppe an; hat sich aber auch bei der Agglutinationsprüfung vollständig negativ verhalten.

5) Die mit Stamm A malignes Oedem, Bacillus Ghon und Sachs und mit Rauschbrandbacillus vorbehandelten Tiere starben nach Injektionen von Kulturen der Stämme B und D malignes Oedem, so daß eine gegenseitige Immunisierung nicht angenommen werden kann.

6) Auf Grund dieser Befunde ist es nicht möglich, die verschiedenen Bacillen als identisch zu erklären; und deshalb scheint es auch heute noch angezeigt, die Bezeichnung Bacillus des malignen Oedems als einen Sammelbegriff aufzufassen.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Professor Dr. O. Wyss, Direktor des hygienischen Institutes der Universität Zürich, meinen verbindlichsten Dank auszusprechen für die Ueberlassung des Materiales.

Besonderen Dank schulde ich Herrn Privatdozenten Dr. W. Silberschmidt, Vorstand der bakteriologischen Abteilung des Hygieneinstitutes, für die Anregung zu dieser Arbeit und den stets bereitwilligst erteilten Rat während deren Durchführung.

Literaturverzeichnis.

- Conrádi, v. Drigalski und Jürgens, Eine unter dem Bilde des Typhus verlaufende Epidemie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII.)
- David, Malignes Oedem; Rauschbrand. (Lubarsch und Ostertag, Ergebnisse. Jahrg. VI. 1899.)
- v. Drigalski, Ueber Ergebnisse bei der Bekämpfung des Typhus. (Centralbl. für Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXV.)
- Duenschemann, Etude expérimentale sur le charbon symptomatique et ses relations avec l'oedème malin. (Ann. l'Institut. Past. T. VIII.)
- Eisenberg, Philipp, Beiträge zur Kenntnis der spezifischen Präzipitationsvorgänge. (Bull. de l'académie des sciences de Cracovie. 1902.)
- Eisenberg u. Volk, Untersuchungen über die Agglutination. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL.)
- Fraenkel, Eugen, Ueber Gasphlegmone, Schaumorgane und deren Erreger. (Zeitschrift f. Hyg. Bd. XL.)
- , Die Aetiologie und Genese der Gasphlegmone und Schaumorgane des menschlichen Körpers. (Lubarsch und Ostertag, Ergebnisse. 1904.)
- Ghon u. Sachs, Beiträge zur Kenntnis anaërober Bakterien des Menschen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIV, XXXVI.)
- Grassberger u. Schattenfroh, Ueber Buttersäuregärung. (Arch. f. Hyg. I. Abhandl. Bd. XXXVII; II. Abhandl. Bd. XLII; III. Abhandl. Bd. XLVIII.)
- , Münch. med. Wochenschr. 1901. p. 50 ff., p. 1312 ff. 1902. p. 1570, p. 1733.
- Hammerl, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXX.
- Hibler v. E., Beiträge zur Kenntnis der durch anaërobe Spaltpilze erzeugten Infektionskrankheiten der Tiere und des Menschen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXV.)
- Hitschmann u. Lindenthal, Ueber die Gangrène foudroyante. (Sitzungsberichte der kais. Akademie der Wissenschaften in Wien. 1899.)
- Joos, Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXX.)
- Kamen, Zur Aetiologie der Gasphlegmone. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXV.)
- Kedrowski, Ueber die Bedingungen, unter welchen anaërobe Bakterien bei Gegenwart von Sauerstoff existieren können. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XIX.)
- Kitasato, Ueber den Rauschbrandbacillus und sein Kulturverfahren. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VI.)
- Kitasato u. Weyl, Zur Kenntnis der Anaëroben. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VIII.)
- Klein, E., Ueber einen pathogenen anaëroben Darmbacillus: Bacillus enteritidis sporogenes. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XVIII.)
- Leclainche et Vallée, Etudes comparées entre le vibron septique et la bactérie du charbon symptomatique. (Annales de l'Inst. Pasteur. T. XIV.)

- Leclainche et Vallée, *Recherches expérimentales sur le charbon symptomatique.* (Ibib.)
- Liborius, Beiträge zur Kenntnis des Sauerstoffbedürfnisses der Bakterien. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. I.)
- Lipschütz, Ueber die bakteriolog. Diagnose des Typhus abdominalis. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXV.)
- Löwit, Ueber Niederschlagsbildung bei der Agglutination. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXIV.)
- Muscatello u. Gangitano, Münchner med. Wochenschr. Bd. XXXVIII. 1900.
- Novy, Ein neuer Bacillus des malignen Oedems. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VII.)
- Pfeiffer u. Kolle, Ueber die spezifische Immunitätsreaktion der Typhusbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXI.)
- Silberschmidt, Bakteriologisches über einige Fälle von „Gangrène foudroyante“, von Phlegmone und Tetanus beim Menschen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLI.)
- Trenkmann, Das Wachstum der anaëroben Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIII.)
- Wassermann, Ueber Agglutinine und Präzipitine. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII.)

Nachdruck verboten.

Bakteriologische Untersuchungen über Cervicitis und Endocervicitis bei Schwangerschaft.

Beitrag zum Studium der Mikroorganismen des Genitalkanals der Schwangeren.

[Aus dem Institute für Geburtshilfe und Gynäkologie der Universität Genua (Prof. L. M. Bossi).]

Von Dr. Francesco Varaldo, Assistent.

(Schluß.)

Technik.

Bei der Untersuchung des Sekretes der Scheide und der Cervix wurde besonders die von den verschiedenen Autoren angewandte Technik der Entnahme desselben erörtert und ihr die widersprechenden Resultate zugeschrieben. Besonderer Krieg wird dem Gebrauche des Spekulum erklärt.

Williams zögert nicht, zu behaupten, daß ungeachtet aller Vorsicht, das Versuchssekret bei Anwendung des Spekulum verunreinigt werde. Ohne in Abrede zu stellen, daß vielleicht andere Mittel, wie z. B. der Mengesche Löffel, geeigneter seien, müssen dennoch die schlimmen Behauptungen über den Gebrauch der Specula eingeschränkt werden, denn gerade die hartnäckigsten Verteidiger der Scheidenasepsis, wie Krönig, Miranda etc., bedienen sich des Spekulum bei ihren Forschungen über das Scheidensekret.

Ich zog das Spekulum nach Collin-Bossi vor, welches wegen der Kürze seiner vorderen Klappe nicht leicht gegen die Portio stößt.

Um jeden Irrtum auszuschließen, suchte ich alle Vorsichtsmaßregeln, besonders jene von Miranda empfohlenen, genauest einzuhalten, daher wurde beim Eintritt jeder Schwangeren in die Klinik aufgezeichnet, ob sie kurz vorher innerlich untersucht worden war.

Nach gründlicher Desinfizierung der äußeren Genitalien strich ich vorsichtig mit einem sterilisierten, in antiseptischer Lösung getränkten Wattebäuschchen über die kleinen Schamlippen bis zur Scheidenöffnung. Hierauf legte ich den Uterushals mittels eines in einem Tindalschen

Apparat sterilisierten Spekulum frei und überzeugte mich von dessen Beschaffenheit.

Nur die Fälle von vorgerückter Cervicitis mit starker Rötung des äußeren Muttermundes, ungleicher, ausgeschlitzter, granulierender Oberfläche, besser noch diejenigen von Ektropion mit deutlicher oder vermuteter Ulceration wurden für die Untersuchungen bestimmt. Diese Frauen blieben sorgfältig vor inneren Untersuchungen oder Scheidenbehandlungen 6—8 Tage behütet, dann erst schritt ich zur Sekretentnahme. In vielen Fällen ging der genauesten Desinfektion der äußeren Genitalien Trichotomie voraus, die Schamlippen wurden gespreizt, der Scheideneingang mit sterilisierter Watte, welche in antiseptische Lösung getaucht und wieder gut ausgedrückt war, gereinigt, hierauf das Spekulum nicht sehr tief eingeführt und die hintere Scheidenwand stark hinabgedrückt. Von dem freigelegten Halse nahm ich mein Versuchsmaterial. Ich bediente mich kleiner, an einem Metalldrahte befestigter Wattebäuschchen in Glasröhrchen, alles zuvor im Apparate sterilisiert; drei oder mehrere Tupfer führte ich rasch, ohne die Wände des Spekulum zu berühren, bis an das Orif. ext. und bestrich damit die kranke Oberfläche. So erhielt ich jenen blaßgelben Schleim, der diese oftmals überzieht und legte damit Kulturen und Präparate an.

Vor der Anwendung der Tupfer entnahm ich jedoch von der äußeren kranken Oberfläche der Portio etwas Material, das mir als Versuch der Reaktion auf Lackmuspapier dienen sollte. Die Präparate wurden mit den gewöhnlichen Anilinfarben und der Gramschen Methode gefärbt.

Eines der benützten Wattebäuschchen tauchte ich in verschiedene Kulturröhrchen von einfacher und gezuckerter Bouillon. Nachdem die Röhrchen 24 Stunden im Brutschranke verblieben waren, prüfte ich deren Entwicklung und isolierte die verschiedenen Mikroorganismen auf festen Nährmitteln. In gleicher Weise beschickte ich mehrere tiefe Agarröhrchen für anaërobe Kulturen. Mit den anderen Bäschchen, oder wenn diese nicht hinreichten, mit der ersten infizierten Bouillon legte ich sogleich Platten von festen Nährmitteln an. Ich gebrauchte einfaches Agar mit neutraler Reaktion, mit leicht alkalischer und mit leicht saurer Reaktion, Agar mit Zusatz von Zucker, mit Zusatz von Glycerin, Agar mit Blut, mit Kystomflüssigkeit oder mit geronnenem placentarem Serum gemischt.

Nachdem ich das Material aus dem Uterushalse genommen hatte, schabte ich in jedem einzelnen Falle mit der Platinöse ein wenig Sekret von den Seitenwänden der Scheide ab, welche ich mittels des Spekulum ausdehnte. Mit diesem Sekrete legte ich ein bakterioskopisches Präparat an und prüfte die Reaktion.

Resultate.

Wenn wir die Resultate der verschiedenen Autoren vergleichen, welche die bakteriische Flora des Genitalkanals der Schwangeren studierten, so ist leicht zu ersehen, daß die meisten (Winter, Steffek, Burguburu, Maslowsky, Döderlein, Witte, Burkhardt, Jakobs, Walthardt, Vahle, Trettennero, Koßmann, Koblack, Stähler und Winkler, Stoltz) das Vorhandensein pyogener Keime im Scheidensekrete gesunder, nicht frisch untersuchter Schwangerer als möglich und sogar häufig vorkommend annehmen. Diese Autoren bestätigten nicht nur die Anwesenheit in den mikrobakterioskopischen Präparaten, sondern es gelang ihnen auch, sie in Reinkultur zu erhalten, zu identifizieren und deren Virulenz bei den Tieren zu beweisen. Diesem

Dafürhalten stehen bedeutende, aber wenige Autoritäten dieses Faches gegenüber: Gönner, Thomen, Samschin, Krönig, Miranda, Bergholm. Sie sind der Ansicht, daß mit Ausnahme der Gonokokkeninfektion die Scheide der nicht untersuchten Schwangeren aseptisch angenommen werden muß. Aber auch sie haben oftmals bakterioskopisch Mikrokokken und besonders den *Streptococcus* (denn auf diesem Mikroorganismus beruht hauptsächlich die Frage, da er als der hauptsächlichste pathogene Keim der puerperalen Infektion gilt) im Scheidensekrete Schwangerer aufgefunden. Jeder isolierte mittels der einen oder der anderen Methode diese Streptokokken in Reinkultur und studierte deren morphologische, kulturelle und pathogene Eigentümlichkeiten, allein die Tatsache, daß sich diese Mikroorganismen ohne Virulenz in den Versuchstieren erwiesen, und auf Grund besonderer entweder morphologischer oder kultureller Charaktere derselben, kamen die Autoren zu dem Schlusse, daß die Scheidenstreptokokken sich von den gewöhnlichen pyogenen Streptokokken unterscheiden und besondere Formen von Streptokokken — Saprophytenstreptokokken — darstellen, welche unfähig sind, irgend eine Virulenz anzunehmen oder zu besitzen. Das Ueberaschende dabei ist, daß jeder dieser Autoren eine verschiedene Art von Streptokokken beschreibt, deren besondere Eigentümlichkeiten sie von dem pyogenen unterscheiden, aber gleichzeitig erscheint daraus eine Art, die vollständig von den anderen nicht pathogenen der übrigen Autoren verschieden ist.

Samschin erkennt in den von ihm isolierten Mikrokokken morphologische Eigentümlichkeiten, welche ihn, ohne Versuche an Tieren angestellt zu haben, bestimmen, jene für nicht pathogen anzusehen. Thomen behauptet dasselbe nur auf Grund kultureller Eigenschaften der Scheidenstreptokokken Schwangerer. Krönig bestätigt, daß der *Streptococcus* aus der Scheide gesunder Schwangerer nicht pathogen und stets ein obligater Anaërobier ist. Dies allein ist die ihn individualisierende Charakteristik, welche ihn klar von dem pyogenen, der fakultativer Anaërobier ist, unterscheidet, während er mit letzterem die morphologischen und anderen kulturellen Eigenschaften gemein haben kann, wie z. B., sich nur spärlich in sauren Nährmitteln zu entwickeln. Einmal jedoch konnte Krönig aus dem Scheidensekrete einer Schwangeren einen anaëroben fakultativen Streptokokken isolieren, welcher subkutan in das Ohr eines Kanichens als Dose von 1 ccm eingespritzt wurde und keine Reaktion ergab. Der Autor hält dafür, daß dieser *Streptococcus* im Scheidenkanale während der Schwangerschaft als Parasit der kranken Schleimhaut des Cervixkanals lebte.

Miranda schließt sich vollständig Krönig an. Gönner im Gegenteile erkennt den oftmals in der Scheide Schwangerer lebenden *Streptococcus* nicht als pathogen an, aber er behauptet, daß man ihn stets auch bei Zutritt von Sauerstoff züchten kann, und deshalb sei dieser Mikroorganismus ein fakultativer und kein obligater Anaërobe, der sich von dem pyogenen vor allem durch seine morphologischen und kulturellen Eigenschaften unterscheidet, weil er aus unvollkommen runden Kokken gebildet ist, weil er in den Kulturen eine leichte Trübung der Bouillon veranlaßt und endlich, weil er sich unschädlich erweist, wenn er in gesunde Tiere eingespritzt wird. Bergholm behauptet, daß der Scheiden-*Streptococcus* und der Strept. pyog. gemeinschaftliche morphologische und kulturelle Eigentümlichkeiten haben können, aber ersterer sei nicht nur nicht pathogen, sondern

unterscheide sich noch hauptsächlich dadurch, daß er nicht in den gewöhnlichen alkalischen Nährmitteln (Agar, Gelatine), sondern einzig in saueren fortkommt, auf denen er sich auch bei Anwesenheit von Sauerstoff vorzüglich entwickelt.

Die verschiedenen Formen von *Streptococcus* sind mithin unmöglich in einen einzigen nicht pathogenen Scheiden-*Streptococcus* zusammenzufassen, da die gemeinsame Eigenschaft nur in der Unschädlichkeit bei Einspritzungen in Tiere besteht, während sie sich hinsichtlich ihrer morphologischen und kulturellen Eigentümlichkeiten in derselben Weise unterscheiden wie vom *Strept. pyog.*

Einige der zahlreichen Bakteriologen bezweifelten und bestritten jedoch diese hauptsächlichste Eigentümlichkeit — nämlich nicht pathogen zu sein — der von den obenerwähnten Autoren im Scheidensekrete Schwangerer gefundenen Streptokokken.

So bewies Walthard, daß dieselben Kulturen von Scheidenstreptokokken, deren Eigentümlichkeiten von jenen des pyogenen abwichen (unregelmäßig gestaltete Kokken, Trübung der Bouillon), gewöhnlich keinerlei Einfluß auf die Tiere ausübten, wenn sie in die Ohren gesunder Kaninchen eingespritzt wurden, während sie dagegen Entzündungsgeschwulst des Ohres, Septikämie und den Tod bei jenen Kaninchen herbeiführten, deren Ohren vor der Einspritzung der Streptokokkenkulturen 12 Stunden lang am Grunde der Muschel abgebunden worden waren. Auf diese Weise zeigte Walthard, daß die Scheidenstreptokokken nur eine geringe Virulenz besitzen, aber bei verminderter Widerstandskraft der Gewebe auch pathogen wirken können.

Gönnner gibt zu, daß die von Walthard gefundenen Streptokokken dieselben seien, welche er speziell in der Scheide vorkommend annimmt, aber er beharrt darauf, sie als nicht pathogen zu bezeichnen, da nach seiner Ansicht nur jene Keime als pathogen angesehen werden sollen, die Entzündung und Eiterung der normalen Gewebe gesunder Tiere erzeugen. Er machte seine Versuche vorzugsweise an Meerschweinchen, später auch an weißen Mäusen, hatte aber stets negative Erfolge.

Walthardt bemerkt, daß Streptokokken identisch mit jenen von Miranda, Thomen, Krönig, Samschin und Gönnner — mithin nicht pathogene — im Scheidenkanale von Frauen vorkommen, welche an puerperaler Infektion erkrankt sind.

Stähler und Winkler beobachteten, daß die Streptokokken aus dem Scheidensekrete Schwangerer meistens wirkungslos bleiben, auch wenn sie in einer Dose von 1 ccm unter die Ohrhaut der Kaninchen eingespritzt werden, während eine Dose von 0,2 ccm, welche weißen Mäusen in das Peritoneum eingespritzt wird, deren Tod verursacht. Die Streptokokken treten dann in den Kreislauf des Blutes. Dieselben Autoren wiesen noch nach, daß diese Mikroorganismen an Virulenz zunehmen, wenn sie durch die Tiere gegangen sind.

Auch Stolz fand die Streptokokken der Scheide Schwangerer virulent für weiße Mäuse, manchmal sogar äußerst virulent.

Walthardt, Stähler und Winkler, Stolz betrachten mithin jene Formen, welche sich gewöhnlich in der Scheide Schwangerer vorfinden, nicht von den pyogenen Streptokokken verschieden, wenn sie einige Virulenz besitzen und ihre morphologischen und kulturellen Eigenschaften modifiziert erscheinen.

Gerade auf diesem Punkte beruht heute hauptsächlich die Frage:

Sind die in der Scheide sich vorfindenden Streptokokken pathogen oder nicht? Müssen wir sie als verschiedene Formen von den pyogenen Streptokokken unterscheiden?

Diese Frage ist bis jetzt noch nicht gelöst. Alle Autoren mit wenigen Ausnahmen haben im Scheidenkanale Schwangerer die Streptokokken gefunden. Einige identifizieren sie vollständig mit den pyogenen Streptokokken, andere betrachten sie als atypische Formen derselben, aber mit der Fähigkeit, alle ihre Eigentümlichkeiten, in erster Linie die krankheitserregenden, wieder erlangen zu können; andere Autoren betrachten sie als saprophytische Formen, die absolut verschieden von dem pyogenen *Streptococcus* sind.

Die Bakteriologen neigen heutzutage jedoch, abgesehen vom geburtshilflichen Standpunkte, im allgemeinen zur Annahme der Einheitslehre des Streptokokken. Marmorek stellte fest, daß es mit besonderen Züchtungsmitteln möglich ist, die Streptokokken verschiedensten Ursprungs auf eine vollkommene Identität zurückzuführen, und sie auch auf einen hohen Grad von Virulenz zu bringen. Das häufig beobachtete verschiedenartige Aussehen der *Streptococcus*-Kultur in Fleischbrühe, verbreitete Trübung, Ablagerung von Klümpchen und von Schleim, worauf viele Autoren geglaubt haben, eine Differenzierung der Streptokokken basieren zu können, scheint man dagegen dem nicht beachteten Temperaturunterschiede der Kultur, der Reaktion und der chemischen Zusammensetzung der von den verschiedenen Forschern gebrauchten Bouillon zuschreiben zu müssen (Lemoine, Widal und Bezançon). In Hinsicht auf die bakteriologische Diagnostik des *Streptococcus* in Bezug auf seine Giftigkeit bemerken Miquel und Cambier in ihrem *Traité de Bactériologie*: „Pour obtenir des résultats comparables, on doit employer le procédé qui a servi à Marmorek pour obtenir le virus avec son maximum d'activité. Cet auteur commence par renforcer la virulence du streptocoque en faisant quelques passages de souris à souris, puis de lapin à lapin, qu'il alterne avec des ensemencements sur le bouillon additionné de serum ou de liquide d'ascite . . . mais il ne faut pas oublier que la virulence du streptocoque est très variable et fugitive.“

Ich fand bei meinen Versuchen 7mal den *Streptococcus* und züchtete ihn auf Reinkulturen.

Bei der Prüfung der Virulenz meiner Streptokokkenkultur hielt ich mich stets an das von Marmorek angegebene Verfahren, und indem ich Uebertragungen Maus auf Maus machte, ist es mir gelungen, in den meisten Fällen zu zeigen, daß solche Streptokokken einen gewissen Grad von Giftigkeit haben, welcher bei Uebertragung auf ein anderes Tier sich noch vergrößern kann. Streptokokkenkulturen von 36 Stunden, die in Dosen von 0,5 ccm in das Bauchfell einer kleinen weißen Maus eingespritzt wurden, verursachten den Tod des Tieres nach 48 Stunden. Die Kulturen des aus dem Herzblut entnommenen Mikroorganismus zeigten sich in den nachfolgenden Einspritzungen im höchsten Grade für die Mäuse giftig, selbst bei Dosen von 0,2 ccm.

Haben wir die Giftigkeit dieser Streptokokken in weißen Mäusen sichergestellt, so wissen wir auch, daß wir sie durch fortwährendes Uebertragen von einem Tiere aufs andere bedeutend kräftiger gestalten können und deshalb ist keine verschiedene Species der gewöhnlichen pathogenen Streptokokken festzustellen, auch wenn sie in Kulturen als

leichte Kokkenform auftreten und keine außergewöhnlichen Veränderungen der Eigentümlichkeiten darbieten.

Wie schon hervorgehoben, sind die gleichen Aenderungen der kulturfähigen oder morphologischen Eigenschaften und die momentane Verringerung der Giftigkeit des *Streptococcus* Tatsachen, denen wir nicht selten in den gewöhnlichen Streptokokken, wessen Ursprungs sie auch seien, begegnen, und die Ursachen davon wurde den Methoden und den künstlichen Kulturmitteln zugeschrieben.

Solche Modifikationen können jedoch im Mikroorganismus durch den Einfluß des Nährbodens, auf welchem er lebte und dem er entnommen wurde, bestimmt werden. Zu dieser Annahme führt uns die Beobachtung, daß gerade in den aus der Scheide Schwangerer genommenen Streptokokken diese Modifikationen besonders häufig gefunden wurden, so daß sie den Namen Scheiden-*Streptococcus* erhielten.

Eine andere Tatsache, die von allen Forschern der Bakteriologie des Scheidenkanals und speziell der Schwangeren bestätigt wird, ist die Schwierigkeit der Kultur jener Mikroorganismen. Während sich bei bakterioskopischen Untersuchungen in einer ganz geringen Menge Sekrets zahlreiche Bakterien, besonders Bacillenformen vorfinden, gelingt mit unseren gewöhnlichen festen Kulturmitteln nur die Züchtung weniger Kolonien.

Es ist demnach die Annahme hinfällig, daß die zahlreichen Mikroorganismen, die wir in mikroskopischen Präparaten beobachten, größtenteils tote Formen darstellten, denn diese identische Tatsache ergibt sich bei jeder Untersuchung der Frau, auch wenn sie seit langer Zeit nicht tuschiert worden ist.

Die Ursache dieser Erscheinung müssen wir in der Unzulänglichkeit unserer Kulturmittel und Methoden erkennen. Die Mikroorganismen im Scheidenkanal erfordern gewisse Lebensbedingungen und eine Umgebung, welche die künstliche Züchtung bis jetzt nicht zu schaffen vermochte.

Wegen der geringen Kenntnis der Biologie der verschiedenen Mikroorganismen im Scheidenkanal, wegen der großen und verschiedenen Schwierigkeiten, die sich der bakteriologischen Forschung auf diesem Wege entgegenstellten, aber hauptsächlich, weil ich nicht über eine ausreichende Zahl von Fällen verfügen konnte, war mir kein vollkommenes Studium der bakteriologischen Cervicitis möglich. Ich habe als Hauptzweck die Kultur der pathogenen Keime im Auge gehabt, deren Vorhandensein im Scheidenkanal von großer klinischer Bedeutung ist, und deren kulturelle Eigenschaften wir kennen.

Gleichzeitig unterließ ich nicht, meine Aufmerksamkeit auch auf jene bakterischen Formen zu richten, die ich am öftesten aus den mit meinem Versuchsmaterial besäten Kulturmitteln zu isolieren vermochte und deren morphologische und kulturelle Eigenschaften zu erforschen.

Mit besonderer Sorgfalt wählte ich jene Fälle aus, in denen die Läsionen an der Cervix am schwersten waren, suchte reichliches Material an der kranken Stelle zu sammeln und verteilte das Sekret auf die verschiedensten Kulturmittel.

In zwei Jahren konnte ich 32 Fälle von Cervicitis bei Frauen während verschiedener Schwangerschaftsepochen beobachten; 23 hatten noch nicht den 7. Monat erreicht und waren hauptsächlich in unserer Klinik wegen drohenden Abortes aufgenommen. Die übrigen 9 befanden sich am Ende der Schwangerschaft.

Reaktion: Die Reaktion des mittels der Platinöse auf der kranken Oberfläche der Portio gesammelten Sekrete ist beständig und rein alkalisch, während das gleichzeitig auf den Scheidenwänden entnommene stets saure Reaktion, oftmals auffallend saure, ergab. Manchmal konnte ich konstatieren, daß das Scheidensekret von Frauen mit Cervicitis und drohendem Aborte durch häufige Blutungen neutrale oder auch alkalische Reaktion ergab, wenn dasselbe dem Scheidengewölbe oder der hinteren Klappe des Spekulum entnommen war, während das auf den Seitenwänden der Scheide mittels eines dicken Spatels abgenommene Sekret jederzeit rein saure Reaktion aufwies. Es könnte daraus gefolgert werden, daß die Säure des Scheidensekrets in Beziehung mit der Ausschwitzung von Flüssigkeiten oder mit der epithelialen Abschuppung, welche auf den Scheidenwänden stattfindet, in Beziehung stehe.

Mikroskopische Untersuchung: Die Präparate auf Objektträgern zeigen keine große Verschiedenheit im mikroskopischen Befunde.

Im allgemeinen ist hervorzuheben: Schleim mit reichlichen Eiterkörperchen und ziemlich vielen Epithelzellen, oft auch mit roten Blutkörperchen. Die Leukocyten weisen zum Teile normales Aussehen, zum Teile nekrotische Veränderung auf. Die cervikalen Epithelien sind mehr oder weniger gut erhalten; in einigen färbt sich der Kern nicht gut, und das Protoplasma ist verändert, der Zellenrand unregelmäßig, runzelig und undurchsichtig; auch trübe Schwellung läßt sich bei manchen beobachten. Das Epithel findet sich dagegen auch hier und da wenig alteriert und haufenweise abgestoßen.

Die bakterioskopische Untersuchung ergab eine große Anzahl von Mikroorganismen zwischen und auf den Leukocyten und abgelösten Epithelzellen. Wo ein Häufchen Epithelien weggenommen war, kann man in den intercellulären Räumen Infiltrationen von Mikroorganismen bemerken, denen man es ansieht, daß sie sich nicht allein auf die oberflächlichsten Schichten des Epithels beschränken. Die Mikroorganismen, von verschiedener Größe, sind hauptsächlich in bacillärer Form vertreten, aber es fehlt neben dieser nur in wenigen Fällen die Kokkenform mit Ausnahme des *Gonococcus*; die endocellulären Formen sind dagegen selten.

Wie schon erwähnt, entspricht der großen färbbaren Bakterienzahl nur eine geringe Anzahl von Kolonien in den aeroben oder anaeroben Kulturen.

Den *Saccharomyces* konnte ich in den bakterioskopischen Präparaten ausnahmsweise beobachten, während ich ihn beständig aus den Kulturen erhielt.

Kulturen: Unter den verschiedenen festen Nährmitteln erwiesen sich für die Züchtung und Isolierung der verschiedenen Bakterienarten am geeignetsten Agar und Hydrops ascites, Agar mit Glycerin oder Traubenzucker. Um den *Streptococcus* hervorzuheben, ist besonders die Verteilung des Materials in mehrere Kulturröhrchen mit Bouillon geeignet. Für jeden einzelnen Fall züchtete ich das Material in den verschiedensten Nährmitteln, um so mehr, als ich feststellen konnte, daß sich dieselbe bakterische Form einmal direkt in alkalischen oder neutralen, das anderemal in leicht sauren Nährmitteln entwickelte, ebenso einmal in diesem Nährmittel mehr als in einem anderen.

Die bakterischen Formen aus den Reinkulturen sind:

Aerobien.

I. *Gonococcus* Neisser: Bakterioskopisch (Methode Gram und Modifikation Antony) konnte ich dessen Anwesenheit in 6 Fällen fest-

stellen (Fall 2, 3, 11, 12, 16, 24) und nur zweimal erhielt ich ihn Reinkultur (Fall 3 u. 24). Ich beobachtete die Kolonien in Agar mit Hydrops ascites, in placentarem Serum und in Agar mit menschlichem Blute. In einem dieser zwei Fälle fand er sich fast in Reinkultur vor; im anderen zusammen mit den Streptokokken.

II. Streptococcus: Coccus von 0,6 bis 1 μ Durchmesser, als Diplococcus und in kurzen Reihen, aus 3—5 Elementen bestehend. Färbt sich mit Gramscher Methode. Fakultativ anaërob.

In Bouillon zeigt er unregelmäßige Formen, kurze Kokkenreihen, von denen einige dicker als die anderen und länglich oder rund sind. Bei weiterer Züchtung in Bouillon und besonders Bouillon mit Hydrops ascites bilden sich längere und regelmäßiger Reihen.

Gewöhnlicher Agar: Spärliche Entwicklung, die Kolonien erscheinen als weißliche, kleine Pünktchen, welche kaum bemerkbar sind. In den bakterioskopischen Präparaten, im allgemeinen aus Kulturen von festen Nährmedien, stellt er sich vorzugsweise in Diplokokkenform dar und in spärlichen Reihen.

Agar mit Traubenzucker: Reichlichere Entwicklung.

Einfache Bouillon: Bewirkt eine langsame und leichte Trübung der ganzen Bouillon.

Bouillon mit Traubenzucker: Reichlichere Entwicklung mit Niederschlag kleiner Klümpchen in Kulturröhrchen.

Bouillon mit Hydrops ascites (3 Teile Ascites, 1 Teil gewöhnliche Bouillon): Reichliche Entwicklung. Es zeigen sich längere Streptokokkenreihen, welche mehr dem gewöhnlichen Streptococcus pyogenes in der Form ähneln.

Agar ascites, Blutserum: Gleiche Entwicklung wie bei einfachem Agar.

Gelatine: Langsame Entwicklung von Kolonien, welche mit freiem Auge kaum sichtbar sind. Sie erscheinen, mit Okul. 2, obj. 4 Reichert besehen, rund und fein granulös; sie verflüssigen in Gelatine nicht. In Gelatine mit Impfstich entwickeln sie sich langsam und spärlich mit dünnen Streifen von kleinen unscheinbaren Körnchen.

Kartoffel: Man erhält einen kaum sichtbaren feinen weißlichen Strich.

Milch: Nach einigen Tagen bilden sich körnige Gerinnsel und seröse Flüssigkeit.

Die Bouillonkulturen, welche in das Peritoneum von Meerschweinchen eingepflegt wurden, erwiesen sich beständig unschädlich, während sie bei einer Dose von 0,5 ccm, in das Peritoneum von weißen Mäusen eingespritzt, den Tod des Tieres nach 48 Stunden herbeiführten. Die aus dem Herzblute dieser Tierleichen angesetzten Kulturen wurden bei den folgenden Ueberimpfungen in andere Mäuse stets virulenter (0,2 ccm).

Der Streptococcus nimmt nach den ersten Durchgängen durch die Tiere in den Kulturen Eigentümlichkeiten an, welche ihn dem gewöhnlichen Streptococcus ähnlicher machen als vor der Impfung. Auch in den Präparaten sind die Diplokokkenformen seltener, die Kokken sind abgerundeter, von ungleicher Größe, jedoch immer in kurzen Reihen.

Der Streptococcus entwickelte sich immer zuerst in den Bouillonkulturen und zwar in Gesellschaft mit anderen Mikroorganismen, von welchen er mittels einfacher Agarplatten, Kystomagar und Ausstrich in Röhrchen mit verdichtetem Serum und Agar mit placentarem Blute getrennt werden kann. (?) Nur 5mal wuchs er in Reinkultur (Fälle 4, 11, 17, 24, 29); in zwei anderen Fällen (21 und 31) jedoch konnte er

nicht nur in den bakterioskopischen Präparaten des Cervixsekrets, sondern auch in den mit dem Sekrete angelegten Bouillonkulturen nachgewiesen werden. Es gelang nicht, ihn zu isolieren und zwar wegen der übermäßigen Entwicklung der anderen Bakterienarten, welche ihn begleiteten.

III. *Staphylococcus* mit größeren Kokken als der vorhergegangene, ca. $1\ \mu$ Durchmesser; er entspricht teils der Beschreibung des *Staphylococcus epidermidis* von Wechs, teils ähnelt er demjenigen Passets, und es scheint, daß es sich um den gleichen Mikroorganismus handelt.

Er fand sich 4mal vor; bei Impfungen an Tieren zeigte er sich nicht deutlich pathogen (Fall 2, 9, 14, 16).

IV. Kurzer, plumper *Bacillus* ($1\ \mu$ per $2\frac{1}{2}$), wenig beweglich, von diplobacillärer und eiförmiger Kockengestalt. Färbt sich nicht nach Gram.

Gewöhnlicher Agar: Reichliche Entwicklung mit graulichweißen Streifen.

Agar mit Traubenzucker: idem.

Saurer Agar: Spärlichere Entwicklung.

Gewöhnliche alkalische Bouillon: Rasche, reichliche Entwicklung. Er gibt die Indolreaktion nach einer Kultur von 3—4 Tagen.

Bouillon mit Traubenzucker: Entwicklung mit Gärung.

Milch: Gerinnt langsam und unvollkommen.

Gelatine und Kartoffel: Entwicklung wie der *B. coli*.

Eine Dose von 2 ccm in das Peritoneum von Meerschweinchen eingepflegt, ergab an der Injektionsstelle eine Verhärtung mit nachfolgendem kleinen Absceß.

Diese Bacillen sind ihrem morphologischen und kulturellen Charakter gemäß in die Gruppe der *B. coli* einzureihen.

Deren Anwesenheit wurde in drei Fällen von Cervicitis (Fall 14—17 und 21) beobachtet.

In einem Falle (18) erhielt ich direkt aus dem Sekrete der Cervicitis zahlreiche Bacillenkolonien mit identischen Eigentümlichkeiten des *B. coli*, nämlich daß eine in das Peritoneum eines 500 g schweren Meerschweinchens eingespritzte Dose von 2 ccm dessen Tod innerhalb 48 Stunden herbeiführte.

V. Unbeweglicher *Bacillus*, 2—3 μ lang, 1 μ breit, mit sauberen Rändern, manchmal mit etwas vergrößerten Enden. Er bildet Reihen von 4—5 Bacillen, färbt sich nach Gram. Fakultativer, anaerober *Bacillus*.

Neutraler Agar: Spärliche Entwicklung in punktförmigen, weißlichen Kolonien, welche unter der Linse kreisförmig, mit glatter Oberfläche, einem dunklen Punkt im Zentrum, dem Nährmittel nicht anhaftend erscheinen.

Saurer Agar: Keine Entwicklung.

Agar mit Traubenzucker oder Glycerin: Reichliche Entwicklung.

Serum von geronnenem Blute: idem.

Kystomagar: Entwicklung wie bei neutralem Agar.

Gewöhnliche Bouillon: Spärliche Entwicklung. Es bilden sich kleine Fäden, welche sich nach 3—4 Tagen am Boden des Röhrchens niederschlagen; die Bouillon bleibt an der Oberfläche klar.

Saure Bouillon: Entwicklung wie bei gewöhnlicher Bouillon.

Bouillon mit Traubenzucker: Reichliche Entwicklung; es bilden

sich weißliche Fäden und Häufchen, welche sich am Boden niederschlagen. Keine Gärung. Die Bouillon wird stark sauer.

Gelatine: Keine Entwicklung bei einer Temperatur von 18°.

Kartoffel: Bei 37° unscheinbare Entwicklung; es erscheint ein dünnes, trockenes Häutchen. Die Präparate aus dieser Kultur zeigen die Bacillen zu langen Fäden angeordnet.

Milch: Gerinnt nicht.

Bei Tieren nicht pathogen.

Dieser Bacillus wurde häufig, in beiläufig $\frac{3}{4}$ aller Fälle vorgefunden. Nach seiner Form und einigen kulturellen Eigentümlichkeiten erinnert er an den von Döderlein unter dem Namen „Scheidenbacillus“ beschriebenen Bacillus.

VI. Unbeweglicher, 0,6 μ breiter, 2,4 μ langer, oftmals als Diplobacillus oder zu langen Fäden vereinigter Bacillus. Er ist nach Gram färbbar. Wächst nur aerob.

Saurer Agar: Bildet einen fettigen, schmutzigweißen schmalen Streifen.

Agar mit Traubenzucker: idem, jedoch geringeres Wachstum.

Blutserum: Bildet einen trockeneren Streifen.

Gewöhnliche Bouillon: Sehr spärliches Wachstum; bildet vereinzelte Fäden.

Saure Bouillon: Reichliche Entwicklung; Bildung dicker Fäden, welche sich am Boden niederschlagen; die Bouillon ist trüb.

Bouillon mit Traubenzucker: Wachstum wie in einfacher Bouillon. Keine Gärung.

Kartoffel: Es bilden sich einige weißliche, auffallende Punkte.

Gelatine: Erst nach 4–5 Tagen erscheinen kleine, dem freien Auge kaum sichtbare Kolonien als weißliche Pünktchen, die nicht weiter wachsen. Unter dem Mikroskop (Okul. 2, Obj. 4, Reichert) erscheinen sie kreisrund oder eiförmig, mit unregelmäßigen Rändern und granulöser Oberfläche, gelblich und im Zentrum dunkler.

In Gelatine als Impfstich erscheint nach einigen Tagen ein linienförmiger, kaum sichtbarer Streifen, welcher nicht weiter wächst. Schmilzt nicht und greift nicht auf die Oberfläche über.

Milch: Gerinnt nicht.

Ist nicht pathogen bei Tieren.

Dieser Bacillus wurde ziemlich häufig angetroffen, jedoch bei weitem nicht in dem Maße des vorhergehenden.

VII. Unbeweglicher Bacillus, nach Umfang und Form den Diphtheriebacillen ähnlich, erscheint manchmal zart, leicht keulenförmig, manchmal dagegen in kräftigen und ausgeprägten Keulenformen. Die Kolonien sind gegen jene des Diphtheriebacillus trockener und hängen dem Nährmittel an. Oft zeigen sie eine dunkle Einsenkung.

Diese Bakterienart entspricht den sogenannten pseudodiphtherischen Bacillen, aber sie ist schwerer als die gewöhnliche diphtherische und pseudodiphtherische Art zu züchten.

Die Kolonien entwickeln sich in aeroben und anaeroben Mitteln.

Gewöhnliche Bouillon: Starke Trübung mit leichtem, pulverigem Niederschlag.

Kystomagar: Reichliche Entwicklung.

Serum aus geronnenem Blute: idem.

Gewöhnlicher Agar und saurer Agar: Geringes Wachstum.

No.	Datum der Schwangerschaft	Verlauf der Schwangerschaft	Läsionen des Uterushalses	Komplikationen	Scheiden-
					Qualität
1	9.Mon.	Leukorrhöe	Doppelseitige Lacerationen; über den ganzen Uterusmund verbreitete Ulceration; die zwei Lippen kollabieren	Keine	Reichlich dickes, weißliches Sekret
2	7.Mon.	Leukorrhöe, Brennen beim Harnlassen	Wuchernde Ulceration am Orif. ext. mit leichter Diffusion	Kondylomaa. der Vulva u. Scheide. Urethritis	Sehr reichliches, fast flüssiges, weißliches Sekret
3	4.Mon.	Starke Leukorrhöe, Brennen b. Harnlassen, Schmerzen	Hyperämie des ganzen Halses, Ulceration d. Schleimhaut am Orif. ext. Endocervicitis	Vulvitis. Gonorrhöische Urethritis	Reichlich, flüssig, gelblich-weiß
4	7.Mon.	Seit einem Monat heftige Leukorrhöe	Einfache Ulceration des ganzen Muttermundes. Ovula Nabothi.	Cardiopathie	Reichlich, ziemlich flüssig, weißlich
5	9.Mon.	Normal	Wuchernde Geschwürsbildungen der Schleimhaut, auf den äußeren Uterusmund beschränkt	Influenza	Sehr reichlich von weißl. blaßgelber Farbe
6	5.Mon.	Leichte Metrorrhagien in den ersten 3 Monaten. Leukorrhöe	Ectropium mit umgestülpter Schleimhaut. Links tiefe Laceration	Scabies	Reichlich, fast flüssig, weißlich
7	5.Mon.	Nichts Besonderes zu erwähnen	Einfache Ulceration des ganzen Muttermundes. Ovula Nabothi	Lungentuberkulose	Reichlich, flüssig, weißgelb
8	9.Mon.	Drohender Abort; fortwährend tröpfelt Blut	Wuchernde Geschwürsbildung am Orif. ext. Endocervicitis	Tiefer Dammriß; Prolapsus vaginae.	Reichlich, zieml. flüssig, weißlich
9	5.Mon.	Heftige Metrorrhagien. Ab und zu tröpfelt Blut. Kommt in die Klinik wegen drohenden Abortes.	Wuchernde Ulceration am Orif. ext. des Halses.	Keine	Wenig mit Blut gemischtes Sekret
10	9.Mon.	Normal	Doppelseitige Lacerationen. Wuchernde Geschwürsbildung des Muttermundes am Orif. ext. Endocervicitis	Leichte Albuminurie	Sehr reichliches, flüssiges, blaßgelbes, schäumendes Sekret
11	8.Mon.	Drohender Abort in den ersten 3 Monaten mit Blutverlusten. Leukorrhöe	Wuchernde Ulceration des Muttermundes am Orif. ext. Endocervicitis.	Keine	Sehr reichliches, flüssiges, gelbes Sekret
12	5.Mon.	Wiederholt Metrorrhagien, drohender Abort	Ectropium mit ausgestülpter Schleimhaut, wuchernde Geschwürsbildg.	Keine	Sehr reichlich, flüssig, weißlich

1) Die Reaktion betrifft das mit dem Platinspatel von den Scheidenwänden ge-

sekretion		Auf den Läsionen der Cervix gesammeltes Sekret			
Reaktion ¹⁾	Mikrobakterioskopischer Befund	Reaktion	Mikrobakterioskopischer Befund	Bakteriologischer Befund	
				aërobe Kult.	anaërobe Kulturen
Sauer	Plattenepithelien, viele Leukocyten; Kokken und Bacillen	Alkal.	Cervikale Epithelien, Eiterkörperchen, zahlreiche Bacillen	V—VI —VII	Keine ausgeführt
Sauer	Plattenepithelien, verschiedene Bacillen- und Kokkenformen	Alkal.	Zahlreiche cervikale Epithelien, Eiterkörperchen, Kokken mit deutlichen Gonokokken	III—V —VII	Saccharomyceten
Sauer	Plattenepithelien, Leukocyten, Bacillen u. Kokken	Alkal.	Zahlreiche Leukocyten u. Epithelien; spärliche bacilläre Formen. Endocelluläre Diplokokken mit allen Eigentümlichkeiten des Gonococcus. Man sieht auch kurze Kokkenketten	I—VI	Wurde nicht gemacht
Sauer	Plattenepithelien, spärliche Leukocyten, zahlreiche Bacillen	Alkal.	Zahlreiche Epithelien u. Leukocyten. Es finden sich nur bacilläre Formen vor.	II—V —VII	idem
Sauer	Scheidenepithelien, Leukocyten und zahlreiche Bacillen	Alkal.	Cervixepithelien, viele Eiterkörperchen und verschiedene Bacillenformen	V—VII	IX—X
Sauer	Plattenepithelien, zahlreiche Leukocyten, Bacillen	Alkal.	Zahlreiche Eiterkörperchen. Wenige Epithelien; verschiedene Bacillenformen	VI—VIII	V—VII
Sauer	Plattenepithelien, Leukocyten, Bacillen u. Kokken	Alkal.	Spärliche cervikale Epithelien, zahlreiche Leukocyten. Bacillen und Kokken	V—VII	Saccharomyceten VII
Sauer	Plattenepithelien, zahlreiche Leukocyten. Bacillen. Keine Kokken.	Alkal.	Reichlicher Schleim mit zahlreichen cervikalen Epithelien, verschiedene Bacillenformen	V—VII	IX—X
Sauer	Plattenepithelien, Leukocyten, Erythrocyten, Bacillen. Keine Kokken.	Alkal.	Zahlreiche Leukocyten, spärliche Epithelien, viele rote Blutkörperchen. Bacillen.	III—VII	V—VII
Sauer	Plattenepithelien, Leukocyten, Bacillen u. Kokken	Alkal.	Viel Schleim mit spärlichen cervikalen Epithelien. Zahlreiche Leukocyten. Verschiedene Bacillenformen	V—VII	Saccharomyceten
Sauer	Epithelien, Leukocyten, zahlreiche Bacillen	Alkal.	Sehr viele Eiterkörperchen, spärliche Epithelien, Bacillen, endocelluläre Diplokokken (Gonococcus)	V—VI	II—VII
Sauer	Scheidenepithelien, Leukocyten, Bacillen, verschiedene Kokkenformen	Alkal.	Cervikale Epithelien, Leukocyten, zahlreiche Kokkenformen, unter welchen sich die Gonokokken auszeichnen	V—VII	V

sammelte Sekret.

No.	Datum der Schwangerschaft	Verlauf der Schwangerschaft	Läsionen des Uterushalses	Komplikationen	Scheiden-
					Qualität
13	4.Mon.	Normal	Wucherndes Geschwür am Orif. ext. Endocervicitis.	Albuminurie	Nicht sehr reichlich, dick, weißl.
14	7.Mon.	Normal	Ovuli Nabothi. Hyperämie des ganzen Halses mit Geschwür am Orif. ext.	Bartholinitis	Nicht reichlich, dick, weiß
15	9.Mon.	Leukorrhöe, in Zwischenräumen tropfenweiser Blutaustritt	Wuchernde Geschwürsbildung am ganzen Muttermunde	Keine	Ziemlich reichlich, weißlich, dick
16	3.Mon.	Leukorrhöe, Brennen beim Harnlassen	Hyperämie des ganzen Halses mit Erosion am ganzen Muttermunde. Endocervicitis.	Urethritis. Urethraler Polyp	Sehr reichliches, flüssiges, weißlich gelbes Sekret
17	5.Mon.	Leukorrhöe, fortwährender tropfenweiser Blutaustritt. Drohender Abort.	Wucherndes Geschwür üben den ganzen Muttermund verbreitet. Endocervicitis.	Keine	Reichlich, flüssig, weiß-blaßgelb
18	8.Mon.	Leukorrhöe, Oedem an den Fußgelenken und den Genitalien	Ovula Nabothi. Ectropium mit ausgestülpter Schleimhaut, welche die Spuren von Abschabungen trägt. Links tiefe Lacerationen.	Cardiopathie	Ziemlich reichlich, sehr flüssig, weißlich
19	4.Mon.	Normal	Ueber den ganzen Muttermund verbreitete Ulceration	Lungentuberkulose	Ziemlich viel, flüssig, weißgelblich
20	4.Mon.	Wiederholte Metrorrhagien	Wuchernde Geschwürsbildung am Orif. ext.	Luetiche Infektion. Toter Fötus in der Uterushöhle	Spärl., dick, mit Blut gemischt
21	6.Mon.	Leukorrhöe	Doppelseitige Lacerationen des Halses. Ectropium mit wahrscheinlicher Ulceration der Schleimhaut.	Keine	Reichlich, flüssig, schaumig, gelblich
22	6.Mon.	Heftige Leukorrhöe	Ectropium mit ausgestülpter hyperämischer, morscher Schleimhaut	Lungentuberkulose	Reichlich
23	5.Mon.	Häufige Blutverluste aus den Genitalien	Ectropium mit ausgestülpter hyperämischer, morscher und verschwärter Schleimhaut	Keine	Spärlich, dick mit Blut gemischt
24	7.Mon.	Starke Leukorrhöe. Brennen beim Urinieren. Oedeme.	Ectropium mit ausgestülpter Schleimhaut, welche Kontinuitätstrennung aufweist. Tiefe doppelseitige Lacerationen.	Albuminurie	Sehr reichlich, fast flüssig, weiß-blaßgelb.

1) Die Reaktion betrifft das mit dem Platinspatel von den Scheidenwänden ge-

sekretion		Auf den Läsionen der Cervix gesammeltes Sekret			
Reaktion ¹⁾	Mikrobakterioskopischer Befund	Reaktion	Mikrobakterioskopischer Befund	Bakteriologischer Befund	
				aerobe Kult.	anaerobe Kulturen
Sauer	Plattenepithelien, nichtsehr zahlreiche Leukocyten	Alkal.	Zahlreiche cervikale Epithelien und Leukocyten	VI—VII	V
Sauer	Scheidenepithelien, spärliche Leukocyten, Bacillen und Kokken	Alkal.	Eiterkörperchen, wenige Bacillen, zahlreiche Kokken	III—IV	V—VII
Sauer	Plattenepithelien, Leukocyten, Bacillen	Alkal.	Cervikalepithelien, Eiterkörperchen, verschiedene Bacillenformen	V—VII	Saccharomyceten
Sauer	Scheidenepithelien, Leukocyten, Bacillen und wenige Kokken	Alkal.	Cervikalepithelien, Leukocyten, zahlreiche Kokkenformen, deutliche Gonokokken	III—VI—VII	VI—VII
Sauer	Plattenepithelien, viele Leukocyten, Bacillen	Alkal.	Cervikale Epithelien, viele Eiterkörperchen, zahlreiche Bacillenformen	II—IV—V	II—V—VII
Sauer	Scheidenepithelien, Leukocyten, verschiedene Bacillenformen	Alkal.	Zahlreiche Eiterkörperchen, verschiedene Bacillenformen	IV	IX—X
Sauer	Scheidenepithelien, Eiterkörperchen, Bacillen	Alkal.	Viele Eiterkörperchen, cervikale Epithelien, spärliche Bacillen	V—VII	V—VI
Sauer	Scheidenepithelien, Leukocyten, rote Blutkörperchen, Bacillen	Alkal.	Zahlreiche Eiterkörperchen, verschiedene Bacillenformen	V—VII	Saccharomyceten
Sauer	Plattenepithelien, Leukocyten, Bacillen	Alkal.	Viele Eiterkörperchen, wenige cervikale Epithelien, viele Bacillen und Kokken, einige von diesen in Kettenreihen	II—IV—VII	VI
Sauer	Scheidenepithelien, Eiterkörperchen, zahlreiche Bacillen	Alkal.	Viele Eiterkörperchen, Bacillen und Kokken	Saccharomyceten	V—VII
Sauer	Scheidenepithelien, Leukocyten, Bacillen	Alkal.	Reichliche Leukocyten u. rote Blutkörperchen, spärliche Epithelien; Bacillen in Kokkenform	VI—VII	IX—X
Sauer	Zahlreiche Scheidenepithelien und Leukocyten, Bacillen	Alkal.	Sehr viele Eiterkörperchen. Wenige Bacillen. Endocelluläre Diplokokken	I—II VI	II—V

sammelte Sekret.

No.	Datum der Schwangerschaft	Verlauf der Schwangerschaft	Läsionen des Uterushalses	Komplikationen	Scheiden-
					Qualität
25	9.Mon.	Reichliche Leukorrhöe und häufige Blutverluste während der ersten Schwangerschaftsmonate	Wucherndes Geschwür am ganzen Muttermunde	Krampfaderen a. d. Schamlippen u. an den unteren Gliedmaßen	Sehr reichlich, flüssig, schaumig, gelb
26	7.Mon.	Nichts Bemerkenswertes	Wuchernde Geschwürsbildung am ganzen Muttermunde	Tiefer Dammriß. Luetische Infekt.	Reichlich, flüssig, schaumig, gelblich
27	3.Mon.	Starke Metrorrhagie. In Zwischenpausen tropfenweiser Blutaustritt. Drohender Abort	Wucherndes Geschwür, auf das Orif. ext. des Halses beschränkt	Keine	Reichlich, mit Blut gemischt
28	6.Mon.	Normal	Verbreitete Geschwürsbildung über den ganzen Muttermund. Endocervicitis.	Kardiopathie	Dicht, reichlich, weißlich
29	9.Mon.	In den letzten 3 Monaten Leukorrhöe	Einfache Ulceration am Orif. ext.	Keine	Flüssig, eiterig, schaumig
30	6.Mon.	Starke Leukorrhöe und leichte Blutverluste in Zwischenräumen	Ectropium mit ausgestülpter Schleimhaut, welche Spuren von Abrasion aufweist	Keine	Sehr reichlich, flüssig, blaßgelb schaumig
31	4.Mon.	Kondylom an der Vulva	Hyperämische, sehr morsche Schleimhaut mit Abrasionen am Orif. ext.	Keine	Reichlich, flüssig, eiterig
32	4.Mon.	Drohender Abort	Wuchernde Ulceration am ganzen Muttermunde	Luetische Infekt.	Reichlich, dick, weiß-gelblich

1) Die Reaktion betrifft das mit dem Platinspatel von den Scheidenwänden ge-

Gelatine: Langsame und spärliche Entwicklung. In Stickkultur: Bildung kleiner Körnchen längs des Impfstiches.

Kartoffel: Leichter weißgraulicher Streifen.

Milch: Gerinnt nicht.

Nicht pathogen bei Tieren.

Wird fast in $\frac{1}{3}$ der Fälle vorgefunden.

VIII. Unbeweglicher Bacillus, $2\frac{1}{2} \mu$ lang, $0,6-0,8 \mu$ breit. Ist nach Gram nicht färbbar, dagegen leicht mit den gewöhnlichen Anilinfarben. Er zeigt sauberen Rand mit abgerundeten Enden; oft ist er in Ketten von 3—4 Bacillen angeordnet.

Gewöhnlicher Agar: Uppiges Wachstum; weißlicher, gleichmäßiger und fortlaufender Streifen.

Agar mit Traubenzucker: Wie auf gewöhnlichem Agar.

Saurer Agar: Kein Wachstum.

Kystomagar: Spärliches Wachstum.

Saure Bouillon: idem.

Gewöhnliche Bouillon: Spärliche Entwicklung; vollständige Trübung mit weißlichen Flocken.

sekretion		Auf den Läsionen des Cervix gesammeltes Sekret			
Reaktion ¹⁾	Mikrobakterioskopischer Befund	Reaktion	Mikrobakterioskopischer Befund	Bakteriologischer Befund	
				aërobe Kult.	anaërobe Kulturen
Sauer	Scheidenepithelien, reichliche Eiterkörperchen; zahlreiche Bacillen und Kokken	Alkal.	Cervikale Epithelien, viele Eiterkörperchen, zahlreiche Bacillen	V—VI	V—IX
Sauer	Scheidenepithelien, Leukocyten und Bacillen	Alkal.	Viele Eiterkörperchen, dreierlei Formen von Bacillen	IV—VII	Nicht gemacht
Sauer	Plattenepithelien, Leukocyten, Erythrocyten, Bacillen	Alkal.	Zahlreiche Leukocyten, spärliche Epithelien, viele rote Blutkörperchen, Bacillen	V—VII	Saccharomyceten V
Sauer	Zahlreiche Epithelien und Leukocyten; spärliche Bacillen	Alkal.	Eiterkörperchen, zahlreiche cervikale Epithelien. Verschiedene Bacillenformen	Saccharomyceten	Nicht gemacht
Sauer	Epithelien, Leukocyten, Bacillen und Kokken	Alkal.	Spärliche Epithelien, Eiterkörperchen, Kokken u. Diplokokken	II—VI	IX—X
Sauer	Plattenepithelien, viele Leukocyten, zahlreiche Bacillen, Kokken	Alkal.	Zahlreiche Eiterkörperchen, cervikale Epithelien, deutliche Bacillenformen	V—VIII	Saccharomyceten IX
Sauer	Scheidenepithelien, viele Eiterkörperchen und Bacillen	Alkal.	Cervikale Epithelien, viele Kokkenketten und isolierte Kokken	II—V	Saccharomyceten V
Sauer	Scheidenepithelien, Eiterkörperchen, Bacillen	Alkal.	Cervikale Epithelien, Eiterkörperchen, Bacillen	VII—VI	VI—IX

sammelte Sekret.

Bouillon mit Traubenzucker: Wie bei gewöhnlicher Bouillon, aber mit üppigem Wachstum. Keine Gärung.

Serum von geronnenem Blute: Leichter, kaum bemerkbarer Streifen.

Gelatine: Kleine, runde, weißliche Kolonien mit regelmäßigen, etwas hervortretenden Rändern. Die Kolonien erscheinen unter dem Mikroskop (Okul. 2, Obj. 4, Reichert) so groß wie der Kopf einer Stecknadel, gelblich und fein granuliert. Die Kolonien schmelzen zuerst die umgebende Gelatine, so daß man sie auf der geschmolzenen Gelatine schwimmen sieht.

In Stichkultur schmilzt die Gelatine rasch ohne Trichterbildung. Nach 5—6 Tagen erreicht sie $\frac{1}{3}$ der Säule und geht nicht weiter voran.

Kartoffel: Weißlicher, wenig auffallender Streifen, welcher in der Folge rötlich wird.

Milch: Gerinnt nicht.

Ist für Tiere nicht pathogen.

Nur in zwei Fällen (6 und 30) angetroffen.

Anaërobier: In den anaëroben Kulturen nach Liborius entwickelten sich sehr häufig Kolonien von der Art II, V, VII und manch-

mal Reinkulturen von *Saccharomyces*. Zwei Gattungen von Mikroorganismen wurden jedoch ausschließlich nur in den anaëroben Kulturen gefunden, und auch in den folgenden Aussaaten gelang deren Züchtung niemals bei Luftzutritt. Es sind deshalb als streng anaërob zu betrachten:

IX. *Bacillus*, 2—3 μ lang, 0,8 μ breit, mit blasenartig aufgetriebenen Enden. Er bildet lange, verschlungene Fäden; färbt sich nach Gram.

Unter der Linse ähneln die Kolonien in den tiefen Agarröhrchen einem verwirrten Fadenknäuel; sie haben weißgelbe Farbe und erreichen einen Durchmesser von 2 mm.

In tiefen Agarröhrchen mit Traubenzucker veranlassen sie Gasproduktion.

Sie wachsen nur bei Bruttemperatur.

Sie entwickeln sich spärlich in Bouillonröhrchen ohne Luftzutritt.

Um ihre pathogene Wirkung zu prüfen, bediente ich mich der Bouillonkulturen, in welche ich wegen deren spärlichen Wachstums vor der Impfung der Tiere einige Agarkolonien mengte. Die subkutane Einspritzung versetzte die Meerschweinchen jedesmal in einen Zustand von Erschöpfung und Uebelbefindens mit nachfolgender Tumorbildung an der Impfstelle und Entzündung der umgebenden Gewebe. Jeder Fall endigte jedoch mit spontaner und vollständiger Heilung (Fälle 5, 8, 18, 23, 25, 29, 32).

X. *Bacillus* 2—2 $\frac{1}{2}$ μ lang, 0,6 μ breit, abgerundete Ränder, etwas krumme Form; bildet Ketten von 2—3 und mehreren Gliedern.

In tiefen mit Zucker versetzten Agarröhrchen als Impfstich wachsen die Kolonien nur bei 3 cm Tiefe als unregelmäßige, abgesonderte, dem freien Auge kaum sichtbare Punkte. Unter der Linse erscheinen sie sternförmig, mit erhabenem, in der Mitte dunklem Punkte, von dem dicke, unregelmäßige Strahlen ausgehen.

Er gedeiht außerhalb des Brutschrankes in Gelatine nicht, konnte auch in Bouillon weder ohne Luftzutritt noch bei fortwährendem Wasserstoffstromen gezüchtet werden.

Die in Bouillon ausgewaschenen Kolonien des Agars erzeugten in einem Meerschweinchen, welches damit geimpft ward, Phlegmone mit nachfolgender starker Zusammenziehung der Gewebe. Die Impfung wurde mit einer dicken Nadel ausgeführt, die an eine Tursinispritze angebracht war.

Diese bakterische Species findet sich häufig mit der vorhergehenden vermischt, von welcher sie nur schwer zu trennen ist (Fälle 5, 8, 18, 23, 29).

Schlußfolgerungen:

I. Das aus den Läsionen des schwangeren Uterus genommene Sekret reagiert beständig alkalisch; das an den Seitenwänden der Scheide gesammelte Sekret dagegen hat stets saure Reaktion.

II. Der Schleim des Cervixkanals des schwangeren Uterus übt keine bakterizide Wirkung auf die gewöhnlichen Eitererreger aus, zeigt sich aber auch nicht als geeignetes Kulturmittel.

III. Die bakterische Flora bei Cervicitis und Endocervicitis während der Schwangerschaft besteht hauptsächlich aus 3—4 Arten saprophytischer Mikroorganismen. Häufig jedoch sieht man dieselben von den gewöhnlichen pathogenen Keimen begleitet.

IV. In 35 Proz. der Fälle gelang es, die gewöhnlichen pathogenen Keime, mit Ausnahme des *Gonococcus*, zu züchten.

V. Der aus dem Genitalkanale entnommene *Streptococcus* wächst aërob und anaërob, in sauren und alkalischen Nährmitteln, ist pathogen für weiße Mäuse und differenziert nicht von dem gemeinen *Streptococcus pyogenes*.

Nachdruck verboten.

Ueber Sporenbildung bei Milzbrand und anderen sporenbildenden Bakterien.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Bonn.]

Von Dr. Selter, Assistent.

(Schluß.)

Auch aus diesen Versuchen auf festen Nährböden geht hervor, daß 3—5-proz. Glycerinzusatz zu Agar die Sporenbildung ungünstig beeinflußt; bei Traubenzuckerzusatz war keine so starke Beeinträchtigung wie bei Bouillon zu bemerken. Allerdings waren in den späteren Generationen viel mehr Degenerationsformen zu finden, wie bei Agar und Milchezuckeragar. Ueberall trat eine Verschlechterung der Sporenbildung auf schrägen Agarröhrchen früher ein, wie auf Platten.

In den einige Tage alten Kulturen der späteren Generationen auf Traubenzucker- und besonders auf Glycerinagar waren die sonderbarsten Degenerationsformen zu sehen, 3—5mal so lang und dick wie normale Bacillen, die einen an den Polen kolbig verdickt, die anderen vollkommen rund oder auch wurstförmig geschlängelt. Der Inhalt dieser Gebilde war ausgefüllt mit größeren und kleineren Kugeln, von denen viele die Größe einer Spore weit überschritten. Sie waren stärker lichtbrechend als das gewöhnliche Protoplasma, jedoch nicht so stark wie Sporen, so daß man eine Verwechselung wohl ausschließen konnte. Sie färbten sich mit Jodlösung rotbraun, mit Sudan III rot, behalten die Farbe bei Färben mit konzentriertem Karbolfuchsin und Entfärben mit 10-proz. Schwefelsäure und verschwinden auf Zusatz von Chloralhydrat (5:2 in Wasser). Sie sind also nach Arthur Meyer (18) und Grimme (19) als Fetttropfen aufzufassen. Die anderen von diesen Forschern angegebenen Reaktionen auf Fett habe ich nicht angestellt.

Außer diesen merkwürdigen Bakterienformen war an den älteren Kulturen noch eines auffallend. Man bemerkte besonders auf den Traubenzuckeragarkulturen, in denen noch vereinzelt Sporen gebildet waren, nach einiger Zeit dicke Auflagerungen, die sekundär entstanden sein mußten. Diese dicken Kolonien, die wie Verunreinigungen aussahen, bestanden fast nur aus dicken, degenerierten Bacillen, kolbigen Gebilden mit Fetttropfen; Sporen waren in diesen Kolonien nie nachzuweisen.

Diese nachträglich entwickelten Kolonien sind wohl aus Sporen entstanden, die das Material zum Aufbau aus den umliegenden zerfallenen und degenerierten Zellen bezogen. Die neu entstandenen Bacillen zeigten aber auch sofort wieder große Neigung zu Degeneration und sind wohl überhaupt nicht als normale aufzufassen.

Auch Preisz (20) beobachtete, daß auf älteren Agarkulturen, wo

Sporen gebildet waren, halbkugelig erhabene, weißliche Auflagerungen von verschiedener Größe entstanden, die er „sekundäre Kolonien“ nennt. Nach Wochen beobachtete er, daß aus diesen sekundären Kolonien noch weitere Knötchen herauswuchsen, die er als tertiäre Kolonien bezeichnet. Die sekundären Kolonien traten um so früher auf, je schneller und besser Sporen gebildet wurden. Preisz glaubt auch, daß die sekundären Kolonien aus Sporen hervorgegangen sind, da er bei künstlich abgeschwächten asporogenen Stämmen nie solche finden konnte. Preisz schreibt dann:

„Die Bacillen der sekundären Kolonien sind gekennzeichnet durch weitgehenden Polymorphismus, durch Mannigfaltigkeit ihrer Größe, sowie durch deutliches Hervorheben der säurefesten Körper. Die sekundären Bacillen weisen alle erdenkbaren Formen auf; zumeist sind sie länger als primäre Bacillen, dick und plump, an den Enden abgerundet, von verschiedener Länge, ungleichmäßig gequollen und gekrümmt. Längere Zellen sind häufig wellig geschlängelt oder verdicken sich an einem Ende zu einer ansehnlichen Kugel. Der innere Bau der sekundären Bacillen ist formreicher; säurefeste Körper sind in der allerverschiedensten Anzahl, Gestalt und Größe vorhanden.“

Daß diese sekundären Bacillen mit ihrem Formenreichtum lediglich Degenerations- und Involutionsformen sind, erwähnt Preisz nicht; es kann aber meines Erachtens kaum bezweifelt werden. Ueber die Natur seiner säurefesten Körper sagt er nur, daß es sich um eine fettartige Substanz handle, da sie sich auch mit Sudan III färben. Ich muß hier Grimme (21) beistimmen, der betont, daß die säurefesten Körper von Preisz (20) und die von Bunge (22), Dietrich und Liebermeister (23), sowie Ottolenghi (24) in Milzbrandbacillen dargestellten Körner nichts anderes als Fetttropfen sind.

Weiter behauptet Preisz, daß Bacillen und Bacillengruppen der genannten Form immer auf eine sekundäre Wucherung zurückzuführen seien, und daß, wenn man auch auf primären Rasen die oben erwähnten Formen finde, die sekundäre Wucherung für das Auge unsichtbar geblieben sei. Dies kann ich nicht bestätigen, da ich auch in Kulturen, wo keine Sporen gebildet waren, diese Degenerationsformen gesehen habe.

Preisz will auch in sekundären Kolonien Sporen „normalen Aussehens“ gefunden haben, woraus er den Schluß zieht, „daß die Sporenbildung nicht, wie ehemals vielfach angenommen wurde, als Schlußakt der vegetativen Tätigkeit der Bakterienzelle aufgefaßt werden darf, der die Zelle bei Eintritt ungünstiger Lebensverhältnisse in eine widerstandsfähige Dauerform versetzt, sondern, daß die Sporulation als ein dem Entwicklungskreise des normalen Milzbrandbacillus eigener Vorgang sich auch in einer und derselben Saat wiederholen kann, ebenso wie die Teilung der Zelle, wenn auch unvergleichlich seltener als letztere“.

Auch dieses muß ich nach meinen Untersuchungen bestreiten, da ich niemals in den sekundären Kolonien Sporen nachweisen konnte, obwohl ich gerade hier das oben beschriebene und in zweifelhaften Fällen gebrauchten Verfahren anwandte, nämlich Aufschwemmen in flüssigem Agar, 10 Minuten langes Verweilen bei 80° und Ausgießen zur Platte.

C. Die Bildung der Sporen in der Zelle.

Ueber das Zustandekommen der Sporenbildung in der Zelle bei Milzbrandbacillen will ich noch einiges erwähnen. Die Anschauungen hierüber sind noch sehr geteilt und lassen sich hauptsächlich in zwei Gruppen scheiden. Die Autoren der einen Gruppe behaupten, daß die Spore aus einem präformierten Körnchen auswächst, oder daß mehrere Körnchen zur Spore verschmelzen. Die der anderen Gruppe hingegen lassen die Spore aus einer Zusammenziehung des Protoplasmas entstehen, wonach bereits bei Beginn der Bildung die Größe der Spore zu erkennen ist und die Spore sich allmählich durch Kontraktion des Protoplasmas genauer von dem übrigen Zelleib differenziert und lichtbrechend wird. Betreffs der Literaturangaben verweise ich auf Preisz.

Ich selbst habe die Bildung der Spore im hängenden Tropfen unter dem Mikroskop im heizbaren Objektschrank beobachtet, was mir auch nach einigen Mißerfolgen, die ich oben schon erwähnt habe, gelang. Ich schwemmte ziemlich reichlich Material von einer Agarkultur in 0,8-proz. Kochsalzlösung auf, da hierin, wie gezeigt, am schönsten und reichlichsten Sporenbildung eintrat.

Ich bemerkte nun folgendes:

Nach einigen Stunden war in der Zelle eine ovale Scheibe zu sehen, die sich ganz leicht von dem übrigen Zelleib und den anderen Zellen abhob, und je nach der Einstellung heller oder dunkler als diese schien. Die ovale Scheibe, von der Form einer Spore, nur etwas größer, nahm etwa zwei Drittel der Zelle ein, so daß an den beiden Polen noch ein kleiner Zwischenraum zwischen dem Rand der Scheibe und der Scheidewand der Zelle blieb (letztere war nicht zu sehen und konnte nur aus der Lage der benachbarten Sporen ungefähr bestimmt werden). Der Raum zwischen den beiden Längswänden der Zelle war vollkommen von der Scheibe ausgefüllt. In den nächsten Stunden trat der Unterschied zwischen der ovalen Scheibe und dem übrigen Zelleib immer deutlicher hervor. Auch bemerkte ich, daß sich die Scheibe ganz leicht kontrahiert hatte, wobei die anliegende Zellwand auf beiden Seiten etwas nach innen eingezogen worden war. Die Scheibe hatte jetzt ungefähr die Größe der fertigen Spore, nur war sie noch nicht so stark lichtbrechend. Allmählich trat dann die stärkere Lichtbrechung ein, womit die Spore fertig ausgebildet war. Die fertige Spore behielt noch einige Zeit ihre frühere Lage bei, doch war jetzt zwischen der Zellwand und Sporenhülle ein schmaler Zwischenraum zu sehen. Nach einem weiteren Zeitraume konnte ich bemerken, daß die Sporenlängsachse sich zur Längsachse der Zelle verändert hatte. Die Spore schien sich jetzt in einem leeren Schlauch zu befinden, dessen Wand noch eben zu bemerken war. Später verschwand auch diese ganz.

Die von mir beobachtete Bildung der Spore stimmt mit der Beschreibung von A. Fischer (25) überein. Dieser sagt, daß das ganze Protoplasma sich bis auf dürftige Reste zu dem jungen Sporenkörper verdichte und daß diese Sporenanlage sich später noch mehr kontrahiert und lichtbrechend wird.

Auch Ascoli (26), der sich im Anfang seiner Arbeit gegen die Ansicht der Autoren wendet, welche die in den Milzbrandbacillen auftretenden Körnchen als die ersten Anfänge der Sporen ansehen, schreibt über die Bildung der Spore: Dieselbe findet in der Weise statt, daß unter allmählicher Andrängung der Körnchen (die nach Ascoli im

zweiten Stadium des Wachstums auftreten) an einen oder beide Zellpole ein anfänglich unscharf begrenzter, matter Körper (Protoplasmaballung) von halb- bis zwei Drittel Zellgröße im Bakterium auftritt, sich allmählich kontrahiert, Eiform und schärfere Umrisse, endlich einen immer stärker werdenden Glanz und Doppelkontur annimmt und so die fertige, neben den früher vorhandenen, noch persistierenden Körnchen bestehende Spore darstellt.

D. Sporenbildung des Milzbrandes bei Sauerstoffmangel.

Aus meinen Untersuchungen über die Sporenbildung bei Milzbrandbacillen geht hervor, daß neben dem Einfluß, den die Ernährung auf die Sporenbildung hat, einer der wichtigsten Faktoren für das Zustandekommen derselben reichlicher Zutritt von Sauerstoff ist. Um so bemerkenswerter erschienen mir deshalb die Untersuchungen von Weil (4, 7, 11), der auch unter anaëroben Verhältnissen auf Quittenschleim und Eibischauszug eine Sporenbildung beobachtet hatte. Slupsky (9) und Jacobitz (8) stellten zwar fest, daß Milzbrandbacillen unter streng anaëroben Verhältnissen keine Sporen bilden können, verwandten aber nicht die von Weil angegebenen Nährböden, denen nach letzterem Stoffe eigen sein sollen, die den Sauerstoff gleichsam ersetzen.

Bongert (13) bewies den nachteiligen Einfluß anaërober Verhältnisse auf die Sporenbildung, indem er 15-stündige Milzbrandkulturen in Bouillonröhrchen, in denen nur die Kuppe gefüllt war, und diese in Buchnersche Röhrchen unter Sauerstoffabschluß brachte. Nach verschiedenen Zeiträumen nahm er die Kulturen aus den Buchnerschen Röhren und stellte sie in den Brutschrank. Nach 17-tägigem Aufenthalt unter anaëroben Bedingungen konnte er keine Sporenbildung mehr nachweisen, schon nach 2 Tagen war dieselbe beeinträchtigt.

Auch Matzuschita (23) kommt zu dem Resultat, daß im luftleeren Raum die Aëroben keine Sporen bilden.

Zu meinen Untersuchungen verwandte ich den von Hammerl (27) angegebenen Apparat, bestehend aus einer 9,5 cm hohen und 12 cm weiten Glasglocke mit eingeschlifffenem Glasdeckel. Der Sauerstoff der eingeschlossenen Luft wird durch Pyrogallussäure und 50-proz. Kalilauge, die auf einen auf dem Boden liegenden Bierfilz gegossen wird, resorbiert. Als Nährboden nahm ich Agar- und Milchzuckeragarplatten, auf die reichlich Milzbrandmaterial, kurz vor der Sporenbildung stehend, verimpft wurde. Zwei Platten wurden jedesmal in der Glasglocke aufeinander, mit dem nötigen Zwischenraum, gestellt und der Deckel der Glocke mit Paraffin abgeschlossen.

Die Glocke kam dann zuerst in den Eisschrank, um zu warten, bis der Sauerstoff resorbiert war, und dann in den Brutschrank bei 35°. Nach 3-tägigem Aufenthalt im Brutschrank wurde die Glocke geöffnet und die Platten untersucht. Auf den untersuchten Platten war keine Sporenbildung zu finden. Die Bacillen waren ganz kümmerlich gewachsen, die Milzbrandfäden teils gut erhalten, teils körnig granuliert. Ließ ich die Platten jetzt unter aëroben Verhältnissen bei 35°, so trat nach 48 Stunden in den gut erhaltenen Fäden schöne Sporenbildung ein.

Bei einem zweiten Versuch nahm ich als Nährboden 5-proz. Quitten- und Eibischschleim. Auch hierin wurde reichlich Milzbrandmaterial geimpft und dann in offenen Petrischalen in der Glasglocke 3 Tage bei 35° kultiviert, nachdem die Glasglocke erst 24 Stunden in den Eisschrank gestellt worden war. Nach Öffnen der Glocke war

weder mikroskopisch noch auch durch Ueberimpfen in flüssigem Agar bei 80° Sporenbildung nachzuweisen. Auf Grund meiner Untersuchungen muß ich daher den letztgenannten Autoren beistimmen, daß unter streng anaëroben Verhältnissen bei Milzbrand keine Sporenbildung eintritt, und daß auch dem Quitten- und Eibischschleim keine Stoffe zukommen können, die im stande wären, den für die Sporenbildung der Milzbrandbacillen unbedingt erforderlichen Sauerstoff zu ersetzen. Vielleicht erklärt sich die entgegengesetzte Ansicht Weils daraus, daß er nicht genügend auf sporenbildende Verunreinigungen der Nährböden geachtet hat, die häufig recht störend sind.

E. Sporenbildung bei Heubacillen.

Im folgenden Teil der Arbeit untersuchte ich, gestützt auf die bisher gewonnenen Erfahrungen bei Milzbrand, auch den Einfluß der Ernährung auf die Sporenbildung der Heubacillen. Die Versuche wurden in derselben Weise, wie im ersten Teil dieser Arbeit, ausgeführt, zuerst mit flüssigen, dann mit festen Nährmedien. Zur Verwendung kamen mehrere Stämme, die aus verschiedenen Stoffen, z. B. aus Milch, frisch gezüchtet waren. Ausgangsmaterial waren 20-stündige Kulturen auf Agarplatten, die aus Sporen, an Fließpapier angetrocknet, hergestellt waren.

a) In flüssigen Medien.

Die Kulturen wurden im hängenden Tropfen angelegt. Diese wurden im Brutschrank bei 35° aufbewahrt und zu verschiedenen Zeiten untersucht. Hierbei zeigte sich in:

- 1) Bouillon nach 20 Stunden deutliche Sporenbildung;
- 2) 5-proz. Glycerinbouillon nach 4 Tagen ganz vereinzelte Sporen¹⁾;
- 3) 2-proz. Milchzuckerbouillon nach 24 Stunden deutliche Sporenbildung;
- 4) 2-proz. Traubenzuckerbouillon nach 4 Tagen nur ganz vereinzelte Sporen;
- 5) 0,8-proz. Kochsalzlösung nach 24 Stunden vereinzelte, nach 48 Stunden schöne Sporenbildung;
- 6) destilliertes Wasser wie 5;
- 7) Leitungswasser wie 5.

Bei Züchtung in Reagenzröhrchen mit 3 ccm Bouillon, die im Brutschrank schräg gelegt wurden, fand sich:

- 1) Bouillon nach 3 Tagen deutliche Sporenbildung;
- 2) 5-proz. Glycerinbouillon nach 5 Tagen vereinzelte Sporenbildung, nach 10 Tagen besser;
- 3) 2-proz. Milchzuckerbouillon nach 3 Tagen deutliche Sporenbildung;
- 4) 2-proz. Traubenzuckerbouillon nach 5 Tagen vereinzelte Sporen, nach 10 Tagen deutliche Sporenbildung.

Wir finden hier also wie bei Milzbrand, daß Glycerin- und Traubenzuckerzusatz zu der Nährbouillon die Sporenbildung beeinträchtigen, und daß die Sporenbildung um so schneller eintritt, je reichlicher die Sauerstoffzufuhr ist, da ja die Sporenbildung im Reagenzröhrchen erst später eintrat.

1) s. Anmerkung 2. p. 189.

b) Auf festen Nährböden.

Auf schrägen Agarröhrchen zeigte sich bei:

1) Agar nach 2 Tagen vereinzelte, nach 3 Tagen schöne Sporenbildung;

2) 5-proz. Glycerinagar nach 8 Tagen deutliche Sporenbildung;

3) 2-proz. Milchzuckeragar, nach 2 Tagen ziemlich reichlich, nach 3 Tagen sehr schöne Sporenbildung;

4) 2-proz. Traubenzuckeragar nach 8 Tagen deutliche Sporenbildung.

Schneller als auf Agarröhrchen trat auch bei den Heubacillen die Sporenbildung auf Platten ein. Hier war auf gewöhnlichem und Milchzuckeragar schon nach 24 Stunden, auf Glycerin und Traubenzuckeragar nach 2 Tagen vereinzelte, nach 3 Tagen schöne Sporenbildung nachzuweisen.

Um auch bei den Heubacillen den Einfluß des mehrfachen Ueberimpfens auf denselben Nährböden zu untersuchen, impfte ich auf schräge Agarröhrchen und von hier jeden 2. Tag weiter bis zur 5. Generation.

1) Auf Agar trat in der 5. Generation prompte Sporenbildung nach 3 Tagen ein.

2) Auf Glycerinagar war schon in der 3. Generation nach 10 Tagen nur noch vereinzelte Sporenbildung nachzuweisen, in der 5. überhaupt nicht mehr. Schon in der 3. Generation traten meist dicke Degenerationsformen auf.

3) Auf Milchzuckeragar trat in der 5. Generation nach 4 Tagen noch reichlich Sporenbildung ein.

4) Auf Traubenzuckeragar war von der 3. Generation an keine Sporenbildung mehr nachzuweisen.

Wir sehen also, daß auch bei den Heubacillen die verschiedenen Nährböden einen großen Einfluß auf die Sporenbildung haben. Glycerin- und Traubenzuckerzusatz beeinträchtigen dieselbe in hohem Maße. Am deutlichsten ist dieser Einfluß in Bouillon zu bemerken, da hier ja die Berührung eine viel innigere ist. Doch auch schon beim ersten Ueberimpfen auf Agar mit Glycerin- und Traubenzuckerzusatz ist eine Schädigung nachzuweisen. Mehrmaliges Ueberimpfen nach kurzer Zeit verwandelt schnell einen sporenbildenden Stamm in einen asporogenen, ohne sonst das vegetative Wachstum merklich herabzusetzen.

F. Sporenbildung bei Anaërobiern.

Zum Schluß prüfte ich auch den Einfluß der verschiedenen Zusätze zum Nährmedium auf die Sporenbildung der Anaërobier. Von diesen standen mir *B. oedematis maligni*, *B. anthracis symptomatici*, *B. botulinus* und *B. tetani* zur Verfügung, die aus dem Králschen Laboratorium in Prag bezogen waren. Als Nährboden verwandte ich Bouillon ohne und mit Zusatz von 5 Proz. Glycerin, 2 Proz. Milchzucker und 2 Proz. Traubenzucker. Zur Züchtung der Anaëroben wurden nur die von Kruse und Ad. Schmidt angegebenen und seit langem im hiesigen Laboratorium zur Züchtung der Anaëroben verwandten Röhrchen benutzt. Etwa 12 cm lange und 1½ cm weite dickwandige Glasröhrchen mit einem einfach durchbohrten Gummistopfen verschlossen, durch welchen der längere Schenkel eines dünnen, gebogenen Glasrohres so weit gesteckt wird, daß die untere Oeffnung des Rohres mit der unteren Stopfenseite abschließt. Das Röhrchen wird bis fast an den Rand mit Bouillon gefüllt, so daß beim Aufsetzen des Gummistopfens die Flüssigkeit noch etwas in dem Glasrohr aufsteigt. Das

gefüllte Röhren wird mit Gummistopfen und Glasrohr kurz vor dem Impfen noch einmal auf 100° erhitzt und danach schnell abgekühlt, um den Sauerstoff aus der Nährflüssigkeit zu vertreiben. Mit dieser Methode gelingt es jedesmal, die Anaëroben zur üppigen Entwicklung zu bringen.

B. oedematis maligni.

1) Gewöhnliche Bouillon: nach 24 Stunden leicht getrübt, unter Gasbildung. Nach 3 Tagen stark getrübt, mit mäßigem Bodensatz; deutliche Sporenbildung in den meisten Bacillen, vereinzelt freie Sporen.

2) 5-proz. Glycerinbouillon: nach 24 Stunden leicht getrübt unter geringer Gasbildung. Nach 3 Tagen stärker getrübt mit geringem Bodensatz. Sporenbildung wie bei 1.

3) 2-proz. Traubenzuckerbouillon: nach 24 Stunden stark getrübt, unter kräftiger Gasbildung, mit flockigem Bodensatz. Nach 3 Tagen sehr stark getrübt, mit dickem, flockigem Bodensatz. Ueberall deutliche Sporenbildung, viele freie Sporen.

2-proz. Milhzuckerbouillon: nach 24 Stunden leicht getrübt, ohne Gasbildung. Nach 3 Tagen ziemlich stark getrübt, mit geringem Bodensatz und mäßiger Gasbildung. Meist deutliche Sporenbildung, vereinzelt freie Sporen.

B. anthracis symptomati.

1) Bouillon: nach 24 Stunden leicht getrübt, geringe Gasbildung. Nach 3 Tagen ziemlich stark getrübt, ohne Bodensatz. Deutliche Sporenbildung.

2) 5-proz. Glycerinbouillon: nach 24 Stunden leicht getrübt mit mäßiger Gasbildung. Nach 3 Tagen ziemlich stark getrübt, mit geringem Bodensatz. Deutliche Sporenbildung.

3) 2-proz. Traubenzuckerbouillon: nach 24 Stunden stark getrübt, unter kräftiger Gasbildung. Nach 3 Tagen sehr stark getrübt, mit dickem Bodensatz. Deutliche Sporenbildung.

4) 2-proz. Milhzuckerbouillon: nach 24 Stunden ziemlich stark getrübt, unter mäßiger Gasbildung. Nach 3 Tagen stark getrübt, mit geringem Bodensatz. Deutliche Sporenbildung.

B. botulinus.

1) Bouillon: nach 24 Stunden ziemlich stark getrübt, unter kräftiger Gasbildung. Nach 3 Tagen stark getrübt, mit geringem Bodensatz. Deutliche Sporenbildung.

2) 5-proz. Glycerinbouillon: nach 24 Stunden mäßig stark getrübt, unter Gasbildung. Nach 3 Tagen stark getrübt, mit geringem Bodensatz. Deutliche Sporenbildung.

3) 2-proz. Traubenzuckerbouillon: nach 24 Stunden starke Trübung und Gasbildung. Flockenbildung. Nach 3 Tagen sehr stark getrübt, mit dickem Bodensatz. Fast überall deutliche Sporenbildung, viele freie Sporen.

4) 2-proz. Milhzuckerbouillon: wie bei Glycerinbouillon,

B. tetani.

1) Bouillon: nach 24 Stunden leicht getrübt, unter geringer Gasbildung. Nach 3 Tagen ziemlich stark getrübt, mit mäßigem Bodensatz. Deutliche Sporenbildung, doch viele Stäbchen ohne Sporen.

2) 5-proz. Glycerinbouillon: nach 24 Stunden leicht getrübt, unter geringer Gasbildung. Nach 3 Tagen stark getrübt, mit mäßigem Bodensatz. Fast in allen Stäbchen Sporenbildung.

3) 2-proz. Traubenzuckerbouillon: nach 24 Stunden leicht getrübt, unter mäßiger Gasbildung. Nach 3 Tagen sehr stark flockig getrübt mit dickem Bodensatz. In fast allen Stäbchen Sporenbildung.

4) 2-proz. Milchzuckerbouillon: wie in gewöhnlicher Bouillon.

Der günstigste Nährboden sowohl für das Wachstum als auch für die Sporenbildung der Anaëroben ist, wie aus den letzten Untersuchungen hervorgeht, 2-proz. Traubenzuckerbouillon. Bei Zusatz von 5 Proz. Glycerin und 2 Proz. Milchzucker zur Bouillon ist weder ein begünstigender noch schädigender Einfluß zu bemerken. Ähnliche Versuche bei Anaëroben hat Matzuschita angestellt, aber nur mit Zusatz von Traubenzucker und Glycerin. Letzteres übt nach ihm in 5- bis 10-proz. Konzentration nur einen geringen Einfluß aus. Seine Resultate mit 2-proz. Traubenzuckerbouillon kann ich nicht bestätigen. Bei *B. oedematis maligni* stimmt mein Befund mit dem seinen überein. Bei *B. anthracis symptomatici* schreibt aber Matzuschita: Wächst sehr gut, die Flüssigkeit trübt sich stark nach 1—2 Tagen, klärt sich jedoch wieder auf (bei mir nach 18 Tagen noch getrübt). Die Sporenbildung ist nach 8 Tagen sichtbar (bei mir nach 3 Tagen fast in allen Bacillen deutlich). Bei *B. botulinus* schreibt er: Entwickelt sich sehr schnell und üppig, die Flüssigkeit trübt sich sehr stark unter Gasbildung, klärt sich jedoch nach 18 Tagen wieder auf (bei mir noch ziemlich getrübt). Die Sporenbildung ist erst nach 20 Tagen und dann noch selten nachweisbar (bei mir nach 3 Tagen in den meisten Bacillen Sporenbildung, viele freie Sporen). Ob das späte Eintreten der Sporenbildung bei *B. anthracis symptomatici* und *botulinus* in 2-proz. Traubenzuckerbouillon eine Eigenschaft der von Matzuschita benutzten Kulturen ist, oder auf der von ihm angewandten Methode beruht, kann ich nicht entscheiden.

Zusammenfassung.

Die Resultate meiner Untersuchungen sind folgende:

1) Die günstigsten Nährböden zur Erzielung einer reichlichen Sporenbildung bei Aërobiern sind einfache Bouillon und Agar und dann diese mit Zusatz von 2 Proz. Milchzucker.

2) 5 Proz. Glycerinzusatz zu den Nährböden übt auf die Sporenbildung einen hindernden Einfluß aus, in nicht so erheblichem Maße auch 2 Proz. Traubenzucker.

3) Es gelingt schon durch einige wiederholte Ueberimpfungen auf Glycerinagar asporogene Stämme zu erzeugen.

4) Die Sporenbildung kommt bei eintretendem Ernährungsmangel zu stande, aber nur, wenn die Bacillen auf der Höhe ihrer Entwicklung stehen, d. h. noch keinen regressiven Veränderungen unterlegen sind.

5) Die Spore bei Milzbrand wird durch Zusammenziehung des Protoplasmas gebildet.

6) Auch in unverdünntem Blutserum kann Sporenbildung bei Milzbrand eintreten.

7) Je reichlicher die Sauerstoffzufuhr, um so besser die Sporenbildung.

8) Bei Sauerstoffabschluß ist bei Milzbrand keine Sporenbildung zu erzielen.

9) Quitten- und Eibischschleim sind nicht im stande, den Sauerstoff zu ersetzen.

10) Die Sporenbildung der Anaërobier wird durch Zusätze von Traubenzucker und Glycerin nicht beeinträchtigt, sondern im Gegenteil begünstigt.

Literatur.

- 1) Koch, R., Zur Aetiologie des Milzbrandes. (Mitteil. a. d. Kaiserl. Gesundheitsamt. Bd. I. 1881.)
- 2) Lehmann, Ueber einige Bedingungen der Sporenbildung. (Sitzungsberichte der phys. u. med. Gesellschaft zu Würzburg. 1890; ref. nach Buchner und Matzuschita.)
- 3) Osborne, Die Sporenbildung des Milzbrandbacillus auf Nährböden von verschiedenem Gehalt an Nährstoffen. (Archiv f. Hygiene. Bd. XI.)
- 4) Buchner, Ueber die Ursache der Sporenbildung beim Milzbrandbacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VIII.)
- 5) Schreiber, Ueber die physiologischen Bedingungen der endogenen Sporenbildung bei *B. anthracis*, *subtilis* und *tumescens*. [Inaug.-Dissert.] Basel 1896.
- 6) Weil, Zur Biologie der Milzbrandbacillen. (Arch. f. Hygiene. Bd. XXXV.)
- 7) Migula, System der Bakterien. 1897. p. 173.
- 8) Matzuschita, Zur Physiologie der Sporenbildung der Bacillen, nebst Bemerkungen zum Wachstum einiger Anaëroben. (Archiv f. Hyg. Bd. XLIII.)
- 9) Klett, Die Sporenbildung des Milzbrandes bei Anaërobiose. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXV.)
- 10) Weil, Die Sporenbildung des Milzbrandes bei Anaërobiose. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI.)
- 11) Jacobitz, Die Sporenbildung des Milzbrandes bei Anaërobiose. (Zeitschr. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXX.)
- 12) Slupsky, Bildet der Milzbrandbacillus unter streng anaëroben Bedingungen Sporen? (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXX.)
- 13) Weil, Neuere Arbeiten über Sporenbildung und Sporenauskeimung der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXII. No. 9.)
- 14) Rosenau, Die keimtötenden Eigenschaften des Glycerins in Bezug auf Impfvirus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXIII.)
- 15) Galtier, Action de la glycérine sur le virus. (Ref. n. Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXI.)
- 16) Bongert, Beiträge zur Biologie des Milzbrandbacillus und sein Nachweis im Kadaver der großen Haustiere. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIV und XXXV.)
- 17) Behring, Beiträge zur Aetiologie des Milzbrandes. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VI.)
- 18) Meyer, Arthur, Ueber Geißeln, Reservestoffe, Kerne und Sporenbildung der Bakterien. (Flora. Bd. LXXXVI. 1899.)
- 19) Grimme, Die wichtigsten Methoden der Bakterienfärbung in ihrer Wirkung auf die Membran, die Protoplasten und die Einschlüsse der Bakterienzelle. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXII.)
- 20) Preisz, Studien über Morphologie und Biologie des Milzbrandbacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXV.)
- 21) Grimme, Einige Bemerkungen zu neueren Arbeiten über die Morphologie des Milzbrandbacillus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXVI.)
- 22) Bunge, Ref. nach Grimme, siehe vorher.
- 23) Dietrich und Liebermeister, Sauerstoff übertragende Körnchen in Milzbrandbacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXII.)
- 24) Ottolenghi, Ueber die feinere Struktur des Milzbrandbacillus. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXV.)
- 25) Fischer, A., Ueber den Bau der Cyanophyceen und Bakterien. Jena 1897. Ref. n. Preisz.
- 26) Ascoli, Zur Morphologie der Bakterien und ihre Beziehung zur Virulenz. (Deutsche med. Wochenschr. 1901. No. 20.)
- 27) Hammerl, Zur Züchtung der Anaëroben. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXI.)

Nachdruck verboten.

Ueber Grundgesetze der Immunität.

- I. Ueber antitoxische und antiendotoxische Immunität und über die Eigenschaften der Endotoxine.
- II. Ueber die zwischen den Endotoxinen und Cytotoxinen (Zellgiften, Eiweißgiften) bestehenden Beziehungen.
- III. Ueber die für die therapeutische Anwendung bakterizider Sera geltenden Grundsätze.

[Aus der k. med. Universitäts Poliklinik zu Berlin. Direktor Geheimrat Prof. Dr. H. Senator.]

Von Dr. **Alfred Wolff**, Assistent an der k. med. Universitäts-Poliklinik.

Einleitung: Entwicklung der Immunitätslehre. Die Entwicklung der Immunitätslehre nahm ihren Anfang von der Kenntnis der zwischen den Toxinen und Antitoxinen bestehenden Beziehungen. Kurz zusammengefaßt, lassen sich die Ergebnisse der seit vielen Jahren auf dieses Gebiet verwendeten Arbeit so darstellen:

Injiziert man einem Tiere eine Toxindosis, so treten je nach der Dosis verschiedene Erscheinungen auf: Ist die Dosis eine tödliche resp. übertödliche, so stirbt das Tier nach einer gewissen Zeit, die man Inkubationszeit nennt und die bei großen Toxindosen kürzer ist, als bei kleinen; liegen die injizierten Toxindosen unterhalb der tödlichen Grenze, so zeigt das Tier nach einer gewissen Zeit, wenn die durch das Toxin bedingten Krankheitserscheinungen abgelaufen sind, die Eigenschaft, Dosen zu vertragen, welche oberhalb der früher tödlichen Minimaldosis liegen, und zwar zeigt dasselbe auch keine besonders starken Reaktionserscheinungen auf die Injektion, als da sind: Abmagerung, Infiltration der Injektionsstelle etc. Außerdem gewinnt das Serum des vorbehandelten Tieres die Eigenschaft, gleichzeitig mit Gift (Toxin) einem nicht vorbehandelten Tiere eingespritzt, dieses Tier vor der Wirkung des injizierten Giftes zu schützen, ein Verhalten, das man mit passiver Immunität bzw. passiver Immunisierung bezeichnet. Von besonderer Bedeutung für das Verhältnis zwischen Antitoxin und Toxin ist das Gesetz der multiplen Proportionen, worunter man eine Gesetzmäßigkeit in den Beziehungen zwischen Toxin und Antitoxin versteht. Hat man durch Austitrierung am Tier die schützende Kraft des antitoxischen Serums eruiert, so kann man ein Tier durch Multipla der Serumdosis auch gegen Multipla der Toxindosis schützen, und zwar stehen diese beiden Dosen im Verhältnis einer einfachen Proportion.

Uebertragung der mit den Toxinen gewonnenen Erfahrungen auf das übrige Immunitätsgebiet. Diese grundlegenden Arbeiten über antitoxische Immunität, die in ihrer praktischen Bedeutung auch heute noch bei weitem die aller später über Serumfragen hinzugekommenen übertreffen, haben weiterhin durch sinngemäße Uebertragung der ihnen zu Grunde liegenden Versuchsanordnungen auf die Erforschung der bakteriziden Immunität zu überaus wichtigen Resultaten auf dem Gebiete der Biologie geführt. Jedoch sind die Verhältnisse, auf welche die Forschung bei dem mühsamen Vordringen hier stößt, außerordentlich komplizierte. Trotz aller Bemühungen, haben die Versuche der auf diesem Gebiete sich betätigenden

Serumforscher eine irgendwie allgemein anerkannte praktische Bedeutung bisher noch nicht gewinnen können. Es erscheint daher durchaus der Mühe wert, die theoretischen Grundlagen der modernen Serumforschung einer Diskussion zu unterziehen und einige Untersuchungen mit in die Besprechung hineinzuziehen, die seiner Zeit am Königsberger hygienischen Institut bei R. Pfeiffer begonnen wurden und deren Fortsetzung in großem Maßstabe mir durch das außerordentliche Entgegenkommen meines hochverehrten Chefs, Herrn Geheimrat Senator, ermöglicht wurde. Großen Dank schulde ich auch der Unterstützung, welche mir durch das Kuratorium der Gräfin Bose-Stiftung im Jahre 1903 zu teil wurde. Es sei mir gestattet, auch an dieser Stelle allen Genannten meinen Dank für die mir zu teil gewordene Hilfe auszusprechen. Ich danke ferner der Direktion der Höchster Farbwerke, die mir in liberalster Weise hochwertiges Tetanus- und Diphtherietoxin und Antitoxin in jeder Quantität für diese Untersuchungen zur Verfügung stellte.

Wir haben uns die Aufgabe gestellt, eine Uebersicht über das große Gebiet der Immunitätslehre zu geben.

Toxinbildung durch Bakterien. Wenden wir zuerst noch einen Augenblick den Toxinen allein unsere Aufmerksamkeit zu. Die Zahl der Bakterien, bei denen eine echte Toxinbildung sicher nachgewiesen worden ist, ist zwar nur gering, und die Toxine hätten an sich nie die ungeheure Bedeutung erlangen können, wenn nicht die relativ einfachen, bei den Toxinen vorliegenden Verhältnisse den Weg vorgezeichnet hätten, welchen die weitere Forschung einschlagen mußte. Toxinbildner sind von den für die menschliche Pathologie in Betracht kommenden Bakterien eigentlich nur die Diphtherie- und Tetanusbacillen; bei der großen Mehrzahl der anderen Bakterien ist eine Toxinbildung einwandfrei bisher niemals nachgewiesen worden. Ich spreche absichtlich von Toxin- und nicht etwa von Giftbildung, denn daß die zahllosen pathogenen Bakterien eine Giftwirkung ausüben, dürfte ja wohl außer jedem Zweifel stehen. Ich unterlasse es hier, für diese Giftwirkung sämtlicher weiteren Bakterien Beispiele herbeizuziehen und möchte mich begnügen, auf den Cholera- und Typhustod der Versuchstiere oder des Menschen hinzuweisen.

Es könnte vielleicht scheinen, als ob diese feine Unterscheidung zwischen Toxin- und Giftbildung eine gekünstelte wäre; doch wäre dies ein Irrtum. Es handelt sich hier um Unterschiede von der allerhöchsten prinzipiellen Bedeutung. Der Mangel der unbedingt notwendigen Scheidung der beiden Begriffe Toxin und Giftbildung hat eine völlige Verknennung der theoretischen Grundlage einer jeden Serumtherapie mit bakteriziden Seris bewirkt und außer der unnütz aufgewandten Arbeit auch zu Versuchen am Menschen geführt, die man leicht hätte vermeiden können, wenn man die Grenze zwischen beiden Begriffen nicht fortwährend verwischt hätte. Um zu einem Verständnis der hier vorliegenden Verhältnisse zu gelangen und um die zahlreichen, auf der allerdings naheliegenden und entschuldbaren Verwechselung dieser beiden Grundbegriffe der Immunität beruhenden Mißverständnisse zu vermeiden, möchte ich mir erlauben, die Definitionen des Bakteriengiftes und des Bakterientoxins kurz nebeneinanderzusetzen.

Toxin und Endotoxin. Toxine und Endotoxine sind giftig wirkende Substanzen, welche in bestimmten Dosen den Tod der injizierten Tiere nach einer Inkubationszeit herbeiführen.

Die Toxine bewirken — in vorsichtig abgestuften Dosen in-

jiziert — das **Auftreten von Antikörpern** im Serum, welche dem Tiere aktive Immunität verleihen. Wird das Serum einem zweiten Tier einverleibt, so wird dieses passiv immun. **Multipla des antitoxischen Serums** verleihen Schutz gegen **Multipla der Toxin-dosis**.

Endotoxine — gleichviel in welcher Form injiziert — **bewirken nicht** das Auftreten **anti-endotoxischer Substanzen** im Serum. Das durch Vorbehandlung mit Endotoxinen gewonnene Serum wirkt nur **bakteriolytisch**. Durch die Auflösung der Bakterien kommt zwar ebenfalls ein Schutz gegen die Infektion zu stande, doch schützen **Multipla** der Serumdosis **nicht** gegen Multipla der Infektionsdosis. Durch die Vorbehandlung mit Endotoxinen wird ein Schutz des Tierkörpers gegen Endotoxinwirkung nicht erreicht.

Nomenklatur. R. Pfeiffer¹⁻³⁾ hat dem Bakteriensubstrat, das eine von dem bisher bekannten Toxin verschiedene Giftwirkung ausübt, einen besonderen Namen gegeben, und zwar hat er es Endotoxin benannt. Der Schöpfer dieses Namens ging von der ganz richtigen Anschauung aus, daß es sich um Gifte handle, welche nicht von den Bakterien abgeschieden, sondern an die Leibessubstanz dieser Bakterien geknüpft seien. Diese Gifte werden also im Gegensatz zum Toxin nicht von den Bakterien in das Kulturmedium sezerniert, sondern haften an den Bakterienleibern und werden dadurch in Freiheit gesetzt, daß die Bakterien einer Auflösung, die man als Bakteriolyse bezeichnet, verfallen.

Freiwerden des Endotoxins. Eine **Bakteriolyse** ist nun einerseits die Folge eines **spezifischen** Vorgangs; bedingt durch die Verankerung des im Immunserum befindlichen Ambozeptors an den Rezeptor des betreffenden Bacillus. Nach Hinzutritt des im normalen Tierkörper vorhandenen Komplements auf die Rezeptor-Ambozeptorgruppe tritt die Bakteriolyse ein.

Andererseits aber kommt es nicht nur im aktiv oder passiv immunisierten Tier zu einer derartigen Bakteriolyse, sondern auch im normalen Tier, wenn auch der Vorgang mit geringerer Intensität abläuft. Man deutet zur Zeit (R. Pfeiffer) beide Vorgänge in gleicher Weise, indem man im normalen Serum ebenfalls spezifische Ambozeptoren (wenn auch in geringerer Menge) annimmt. Es läßt sich nicht leugnen, daß in der Annahme einer unbegrenzten Vielheit von spezifischen Ambozeptoren im Normalserum Schwierigkeiten liegen, doch genüge an dieser Stelle der einfache Hinweis hierauf und die Darstellung des gegenwärtigen Standes der Frage.

1) Pfeiffer u. Wassermann, Untersuchungen über das Wesen der Choleraimmunität. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIV. 1893. p. 46.)

2) Issaeff u. Kolle, Experimentelle Untersuchungen mit Choleravibrionen an Kaninchen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVIII. 1894. p. 17.)

3) Issaeff, Untersuchungen über künstliche Immunität gegen Cholera. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XVI. p. 287.)

4) Pfeiffer, Untersuchungen über das Choleragift. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XI. 1892. p. 393.)

5) — —, Studien zur Choleraätiologie. (Ibid. Bd. XVI. 1894. p. 268; Bd. XVII, XVIII. p. 1.)

6) — —, Weitere Mitteilungen über die spezifischen Antikörper der Cholera. (Ibid. Bd. XX. 1895. p. 198.)

7) — —, Ein neues Grundgesetz der Immunität. (Deutsche med. Wochenschr. 1896. No. 7 u. 8.)

8) — — u. Kolle, Ueber die spezifische Reaktion der Typhusbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXI. 1896. p. 203.)

Außer dieser spezifischen Bakteriolyse gibt es nun noch eine nicht spezifische, bei der die in den Bacillenleibern enthaltenen Endotoxine ebenfalls in Freiheit gesetzt werden, nämlich durch **autolytische Vorgänge**¹⁾. In alten Kulturen von Bakterien findet man infolgedessen nur wenig Einzelindividuen und diese noch dazu in verklumptem und aufgequollenem Zustande.

Die einzelnen Bakterienarten verhalten sich der Autolyse gegenüber verschieden. Ein Teil (Choleravibrionen, Typhusbacillen etc.) verfällt ihr relativ sehr schnell. Die giftigen Leibessubstanzen der betreffenden Bacillen gehen hierbei in Lösung. Man findet bei diesen schon in Filtraten von relativ jungen Kulturen eine Giftwirkung, die in älteren dann noch verstärkt hervortritt.

Eine Reihe von speziell französischen Autoren hält jedoch sogar bei den Cholera- und Typhusbacillen an einer echten Toxinbildung fest²⁻⁶⁾.

Es sei an dieser Stelle nur auf diese Ansichten hingewiesen; es wird sich wohl bald einmal Gelegenheit finden, auf sie näher einzugehen.

Andere Bakterien, wie z. B. die Tuberkelbacillen, zeigen gegenüber der Autolyse große Resistenz; es finden sich infolgedessen in den Kulturfiltraten nur geringe Mengen giftig wirkender Substanzen.

Fanden nun eine Reihe von Forschern in den Kulturfiltraten giftig wirkende Substanzen, so nahmen sie eine Giftsekretion in das Kulturmedium und eine echte Toxinbildung von seiten der Bakterien an. Wir haben nun gesehen, daß die Giftwirkung nicht das einzige und hauptsächlichste Kriterium eines Toxins ist. Durch die Gleichsetzung der giftig wirkenden Substanz mit den Toxinen ist die erwähnte bedauerliche und folgenschwere Verwirrung der Begriffe eingetreten.

Wir hatten oben die Toxine charakterisiert erstens durch ihre Eigenschaft, in bestimmten Dosen den Tod des Versuchstieres herbeizuführen. Diese Eigenschaft hatten sie mit den Endotoxinen gemeinsam. Wir hatten sie weiter zweitens dadurch gekennzeichnet, daß sie, in geringeren Dosen injiziert, aktive Immunität des Tieres gegenüber dem betreffenden verwendeten Toxin hervorriefen und daß durch Vorbehandlung das Serum des mit Toxin injizierten Tieres die Eigenschaft erhält, einem nicht vorbehandelten Tier injiziert, diesem passive Immunität zu verleihen.

Nach Ehrlich hat das Toxin eine bestimmte Konstitution. Es besteht aus 2 Gruppen, der haptophoren und der toxophoren. Die haptophore verankert sich an den Rezeptoren der Körperzellen und bringt dadurch die toxophore Gruppe in die zur toxischen Wirkung erforderliche räumliche Nähe der Zelle. Die Konstitution des Toxins kann

1) Conradi, Ueber lösliche durch Autolyse erhaltene Giftstoffe. (Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 2.)

2) Chantemesse, Toxine typhoïde soluble. (Progr. méd. 1898. p. 245.) Cit. nach Oppenheimer, Lösliches Typhustoxin. (Wien. med. Bl. 1898. No. 18. p. 279.)

*3) Rodet, A. u. Guéchoff, G., Versuche, die Methode der Kollodiumsäckchen auf die Kenntnis der toxischen Produkte des Eberth'schen Bacillus und des Bac. coli anzuwenden. Cit. nach Oppenheimer. (Soc. de Biol. T. LII. 1900. p. 962 u. 965.)

*4) Courmont et Doyon, Effets de la toxine cholérique. (Arch. de physiol. T. XXVIII. 1896. p. 785.)

5) Metchnikoff, Roux et Taurelli Salimbeni, Toxine et antitoxine cholérique. (Ann. de l'Inst. Pasteur. T. X. 1886. p. 257.)

6) Rodet, Lagriffoul et Wahby, La toxine soluble du bacille d'Eberth. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. No. 5.)

sich nun modifizieren, indem durch Veränderung der toxischen Gruppe die toxische Wirkung vermindert resp. aufgehoben wird (Toxoidbildung), ohne daß diese Toxoide die Fähigkeit verlieren, ebenso wie Toxine, die Produktion von Antitoxinen anzuregen; es soll hierzu die noch vorhandene, auf einen Zellrezeptor passende haptophore Gruppe genügen.

Es bildet diese Tatsache bekanntlich eine der festesten Stützen der genialen, auf breitestem Fundament ruhenden Ehrlichschen Seitenkettentheorie. Doch zeigen neuere Untersuchungen, daß zum Zustandekommen der Abstoßung der Zellenrezeptoren, i. e. zum Auftreten von Antitoxin im Blute, eine, wenn auch geringe Mitwirkung der toxophoren Gruppen notwendig ist, da völliger Verlust der Toxizität auch völligen Verlust der Fähigkeit, Antitoxinproduktion auszulösen, zur Folge hat¹⁾.

Es scheint also, als ob von der toxophoren Gruppe doch ein Reiz ausgelöst werden müßte, durch welchen die Abstoßung der Körperzellrezeptoren bewirkt wird, ohne den es nicht zur Abgabe von Antikörpern ins Blut kommt.

Umgekehrt scheint eine besonders hohe Empfindlichkeit einer Tierespecies ebenfalls die Abstoßung der Zellrezeptoren zu verhindern, wie daraus hervorgeht, daß die gegen Tetanus hochempfindlichen Mäuse und Meerschweinchen nach Ueberstehen von Tetanus keine antitoxischen Eigenschaften ihres Bluteserums und keine Immunität gewonnen haben, also keine Zellrezeptoren abgestoßen haben.

Ich denke, auf diese hochinteressanten Fragen, die in naher Beziehung zum Phänomen der Ueberempfindlichkeit stehen, auf Grund von zahlreichen, schon abgeschlossenen Versuchen in kurzer Zeit zurückkommen zu können.

Die Scheidung zwischen Toxinen und Endotoxinen wäre eine viel schärfere geblieben, wenn wir die Ehrlichsche Definition, daß ein Toxin (in jedem Fall) die Produktion von Antitoxin auslöst, uneingeschränkt beibehalten hätten. Jedoch erklärt wohl die Kompliziertheit der biologischen Reaktionen, daß sich alle Beobachtungen — die in der Antitoxinbildung sogar bei jedem Einzelindividuum variieren — nicht in ein Schema einpassen lassen.

Jedenfalls bleibt der **prinzipielle** Unterschied bestehen, daß die Toxine die Produktion von Antitoxinen anregen, während die Endotoxine niemals anti-endotoxische Immunität auslösen.

Reaktion des Tierkörpers auf Endotoxininjektionen. Es soll jedoch nicht die Vorstellung erweckt werden, als ob die Einverleibung von Endotoxin — ganz gleich, ob sie die Form von Bakterien (also ungelöst), oder ob die Bakterien auf irgend eine Weise löslich gemacht worden sind — erfolgt, außer der schon besprochenen Giftwirkung nicht auch eine Reaktion des Tierkörpers auslöste. Die Injektion bewirkt das Auftreten der sogenannten bakteriziden Immunkörper oder Ambozeptoren, welche sich an den Rezeptoren der Bakterien verankern und nach Hinzutreten des Komplements eine Bakteriolyse und damit das Freiwerden von Endotoxinen bewirken. Die bakteriziden Immunkörper und das Komplement sind schon im normalen Serum in nachweisbarer Menge vorhanden, nach Injektion von Endotoxin nimmt die Zahl der Immunkörper oder Ambozeptoren zu und man bezeichnet ein solches Serum dann als Immunserum oder als ein bakterizides Serum.

1) Bruck, C., Experimentelle Beiträge zur Theorie der Immunität. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLVI. 1904. Heft 2.)

Zuerst hat R. Pfeiffer und dann ausführlich sein Schüler Radziewsky¹⁾ darauf hingewiesen, daß bei jeder bakteriellen Infektion, auch bei der virulentesten, Bakterien zu Grunde gehen, und ich habe die aus der Endotoxinlehre sich ergebende Schlußfolgerung ausgesprochen, daß der Tod des Versuchstieres resp. des Menschen nicht durch die Vermehrung der Bakterien an sich erfolgt, sondern einzig und allein durch die, bei der Auflösung der Bakterien frei werdenden giftigen Stoffe (Endotoxine)²⁾.

Die Bakterienauflösung erfolgt, wie aus früheren Untersuchungen und auch aus der erwähnten Arbeit hervorgeht, sowohl im normalen, nicht vorbehandelten, als auch im mit Bakterienendotoxinen vorbehandelten sogenannten Immuntier. Der Unterschied zwischen nicht vorbehandeltem normalen und dem vorbehandelten sogenannten Immuntier besteht nur darin, daß der **Bakterienauflösungsprozeß**, bei dem die Bakterien-Endotoxine in Freiheit gelangen, bei beiden **ein verschiedenes Tempo** einschlägt. Im sogenannten Immuntier ist die Bakteriolyse eine so beschleunigte, daß der Prozeß der völligen Auflösung innerhalb $\frac{1}{2}$ bis $1\frac{1}{2}$ Stunde abgelaufen ist. Auf diese Weise wird es bewirkt, daß trotz Einführung der 10-fach tödlichen Infektionsmenge dennoch die Dosis letalis minima an Endotoxin nicht erreicht wird. Der Grund hierfür ist ein sehr einfacher, nämlich die schnelle Bakteriolyse schneidet gewissermaßen der Hydra der Bakterienvermehrung das Haupt so ab, daß die Bildung neuer Träger von Giftsubstanzen verhindert wird, während bei der langsamen Bakteriolyse des nicht vorbehandelten Tieres neben der Auflösung fortwährend eine Vermehrung der Bakterien einhergeht. Auf diese Weise wird es ermöglicht, daß zwar langsam, aber auch absolut sicher durch die allmählich erfolgende Auflösung der Bakterienindividuen doch schließlich die Dosis letalis minima an Bakterienendotoxinen erreicht wird.

Nur ganz kurz soll das wichtigste Glied der Beweiskette, der von mir sogenannte sterile Cholera²⁾, hier angeführt werden. Er tritt in den Fällen ein, in denen die zugeführte Serummenge gerade noch zur vollständigen Auflösung der injizierten Choleravibrionen resp. Typhusbacillen ausreicht. Es sind in diesen Grenzfällen also mikroskopisch keine Bakterien in der Peritonealhöhle mehr nachzuweisen, trotzdem wird infolge der relativ geringen Serumdosis eine etwas zögernde Auflösung bewirkt und so der Schwellenwert, das ist die Dosis letalis minima an Endotoxinen, erreicht, so daß das Tier an Endotoxinwirkung zu Grunde geht, obwohl sämtliche Bakterien ihrerseits durch Serumwirkung abgetötet worden sind. Es ist dies das klarste und unanfechtbare Beispiel des **reinen Endotoxintodes** ohne jede direkte Bakterienwirkung.

R. Pfeiffer hat nun in zahlreichen Versuchen nachgewiesen, daß die beim Immuntier und beim Normaltier sich findenden Immunkörper identisch sind, nachdem er ursprünglich über diesen Punkt, wie leicht verständlich, eine andere Ansicht gehabt hatte. Trotzdem bleiben nach der bisher herrschenden Lehre noch große prinzipielle Unterschiede zwischen immunen und nicht vorbehandelten Tieren bestehen, die allerdings etwas

1) Radziewsky, Untersuchungen zur Theorie der bakteriellen Infektion. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVII. 1901. p. 1.)

2) Wolff, Alfr., Beiträge zur Kenntnis der morphologischen Vorgänge bei der Infektion und Immunität. (Berl. klin. Wochenschr. 1903. No. 17—20.)

durch die weiter unten zu erwähnenden Untersuchungen eingeschränkt werden. Aus meinen früheren Untersuchungen (cf. l. c. p. 395) zog ich den für die Choleraimmunität und für die ganze Lehre von der bakteriziden Immunität wichtigen Schluß, daß zwischen dem normalen und dem Immuntier keine **qualitativen**, sondern nur **quantitative Unterschiede** bestehen, und, daß das Phänomen, das man gewöhnlich mit Choleraimmunität benennt, nur darin besteht, daß der Organismus die ihm normalerweise schon innewohnende Fähigkeit, Choleravibrionen aufzulösen, **quantitativ verstärkt**, d. h. das Tempo der Auflösung beschleunigt. Infolgedessen wird die Bakterienvermehrung schon zu einem Zeitpunkt unterbrochen, bevor die Menge der durch das weitere Wachstum der Bakterien entstehenden Bakterienleiber die Dosis letalis minima an Endotoxinen angehäuft hat.

Bedeutung der bakteriziden Immunität. Die auf diese Weise zu erzielende Immunität wappnet das Tier scheinbar sehr stark gegen eine Infektion, da durch den geschilderten Mechanismus ja noch die 10-fach tödliche Infektionsdosis überwunden wird. Es bestehen jedoch zwischen **bakterizider** und **antitoxischer Immunität tiefgreifende Unterschiede**.

Bei der antitoxischen Immunität kommt es für den Enderfolg nur wenig darauf an, ob dieselbe eine aktive oder passive ist, bei der bakteriziden dagegen müssen wir streng zwischen diesen beiden Arten unterscheiden. Wir sind nach den Erfahrungen der Klinik gewöhnt (Typhus, Cholera, Pest), den Wert der aktiven Immunisierung höher einzuschätzen, als den der passiven. Es ist diese Auffassung jedoch nicht völlig berechtigt. Ein **aktiv** Cholera-immunisiertes Tier überwindet nämlich z. B. die peritoneale Infektion mit der 10-fach tödlichen Cholera-dosis **nicht** mit absoluter Sicherheit, während das passiv immunisierte Tier sich verschieden verhält, je nachdem ihm die Serumdosis subkutan oder zusammen mit der Infektionsdosis peritoneal an dem Ort der Infektion einverleibt wurde. Im ersteren Falle gleicht sein Verhalten dem des aktiv immunisierten Tieres, d. h. der Schutz ist kein absolut sicherer, im zweiten Fall überwindet das Tier die Infektion mit Sicherheit (in beiden Fällen ist natürlich genügende Serumzufuhr Voraussetzung).

Da nun das Serum des aktiv immunisierten Tieres an sich ausreicht, um eine **große** Zahl von Tieren — peritoneal zugeführt — gegen die peritoneale Cholera, resp. Typhusinfektion zu schützen, während es gegen die peritoneale Infektion am eigenen Leibe keinen absolut sicheren Schutz verleiht, werden wir annehmen müssen, daß das Immunserum beim aktiv immunisierten Tier (ebenso wie beim passiv immunisierten bei subkutaner Zuführung) am Orte der Entscheidung in der Bauchhöhle nicht schnell genug disponibel ist, so daß die Menge der Bakterien sich bis zum Zufluß des Serums schon so vermehrt hat, daß ihre bei der Auflösung durch Serumwirkung frei werdende Menge von Endotoxinen die Dosis letalis minima übertrifft.

Eine Steigerung der Infektionsdosis ist beim aktiv immunisierten Tier überhaupt nicht möglich, ohne den Tod sicher herbeizuführen, beim passiv peritoneal immunisierten vermag man auch **nur** durch ganz unverhältnismäßig große Zufuhr von Serummengen den Tod zu verhindern. Schon die mitgeteilten Tatsachen genügen, um den Schluß berechtigt erscheinen zu lassen, daß es sich bei der bakteriziden oder Endotoxin-

immunität nicht um eine wahre Immunität im Sinne der antitoxischen handeln kann: Ueberschreitet die Infektionsdosis an Bakterien ein bestimmtes Maß, so ist es auf keine Weise mehr möglich, durch Serumzufuhr einen tödlichen Ausgang der Infektion zu verhindern. Dieser prinzipiell wichtige Unterschied ist nicht immer genügend beachtet worden.

Entwicklung der Immunitätslehre. Als man zuerst sich mit den Immunitätsfragen beschäftigte, hatte man Antikörper im wahren Sinne des Wortes gegen die verwendeten Gifte gefunden, d. h. Stoffe, welche im Körper und in vitro die Wirkung der zugeführten Gifte aufhoben. Als die weitere Forschung sich dann mit den Verhältnissen bei der Auflösung von Blutkörperchen und anderen Körperzellen, mit der Präzipitierung von Eiweißsubstanzen, mit der Auflösung und Agglutinierung von Bakterien befaßte, da lag es sehr nahe, diese neu entdeckten und als Reaktionsprodukte nach einem Eingriff im Tierkörper auftretenden Stoffe ebenfalls als Antikörper zu bezeichnen und den erlangten Zustand ebenfalls mit Immunität zu benennen. Nur durch diese historische Entwicklung wird es verständlich, daß man vergessen konnte, daß es sich hier nicht um eine **Immunität im ursprünglichen Sinne der Definition** handelt. Die therapeutischen Mißerfolge bei der Anwendung von nicht antitoxischen, sogenannten bakteriziden Seris, konnten allerdings nicht lange der Aufmerksamkeit entgehen, und man trifft in zahlreichen Arbeiten Klagen darüber, daß die bakteriziden Sera bisher **wegen Fehlens antitoxischer Eigenschaften** keine therapeutischen Erfolge hätten erringen können, und daß man suchen müsse, an Stelle des bakteriziden ein antitoxisches Serum zu setzen.

Dieses Streben führt auf Irrwege. Die notwendige Vorbedingung ist nicht gegeben, da es bei der größeren Zahl der Bakterien überhaupt nicht gelingt, Toxine im eigentlichen Sinne nachzuweisen. Die Klagen über die Unzulänglichkeit der bakteriziden Sera haben ihren Grund nicht sowohl in der mangelnden Kraft dieser Sera, als in der **Unfähigkeit jedes tierischen Organismus, gegenüber Endotoxinen Antikörper zu bilden.**

An und für sich ist ja das bakterizide Serum von viel größerer Wirkung, als das antitoxische. Nehmen wir als Beispiel das Diphtherieserum. Die Wirkung des injizierten Serums kann nur darin bestehen, das von den Bakterien sezernierte Toxin ganz oder zum größten Teil zu neutralisieren. Das Serum kann auf keine Weise verhindern, daß die Diphtheriebakterien selbst am Leben bleiben und weiterhin Toxine sezernieren. So erklärt sich die von anderen und auch von mir auf der Diphtherieuntersuchungsabteilung des Königsb. hyg. Instituts wiederholt gemachte Erfahrung, daß im Munde von Diphtheriepatienten, die mit Serum behandelt worden sind, unter Umständen noch wochenlang nach der klinischen Heilung vollvirulente, d. h. mit der Fähigkeit zur Toxinproduktion versehene Diphtheriebakterien sich aufhalten können. Es wird den bakteriolytischen Kräften des Körpers überlassen, der Infektion schließlich ein Ende zu machen (wenn man nicht annehmen will, daß die Diphtheriebacillen der Konkurrenz der Saprophyten unterliegen). Das bakterizide Serum vernichtet im Gegensatz zum antitoxischen den Infektionserreger von Grund aus und die therapeutische Wirkungslosigkeit desselben beruht, wie immer wieder hervorgehoben werden muß, nur auf der Unfähigkeit des Tierkörpers, gegen Endotoxine Antikörper zu bilden.

(Forts. folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber den Standpunkt Bordets in der Toxinfrage.

[Aus dem kgl. Institut für experimentelle Therapie in Frankfurt a. M.
(Direktor: Geheimrat Prof. Dr. P. Ehrlich).]

Von **Hans Sachs.**

Als Resultat unserer Betrachtungen im vorigen Hefte dieser Zeitschrift¹⁾ hatte sich ergeben, daß in den Giftlösungen mehr antitoxinbindende Gruppen vorhanden sein müssen, als ihrer Giftigkeit entspricht. Da durch Zufügen des Toxins in zeitlich getrennten Fraktionen an einer bestimmten Serummenge die Giftigkeit der Gemische erhöht wird, müssen die Träger der überschüssigen haptophoren Gruppen ungiftig oder weniger giftig als das eigentliche Toxin sein; denn sonst dürften die Endgemische keine Toxizitätsdifferenz zeigen. Diesen Ueberschuß an Bindungsgruppen wird man sich in einfachster Weise, den Anschauungen Ehrlichs folgend, auf verschiedene Moleküle verteilt denken, so zwar, daß jedes Molekül eine haptophore Gruppe besitzt. Die einzelnen Giftkomponenten besitzen demnach primär eine einzige gleichartige haptophore Gruppe, sie unterscheiden sich aber durch deren verschiedene Avidität — denn sonst dürfte eine Giftfraktionierung keinen Unterschied bedingen — und ev. durch die Verschiedenheit der toxophoren Gruppe, die auch ganz fehlen kann (Toxoide). Man könnte nun diese einfache Anschauung auch modifizieren und annehmen, daß primär ein einheitliches Toxinmolekül mit einer Mehrzahl von haptophoren Gruppen vorhanden ist, das durch successive Besetzung mit Antitoxin sekundär durchgreifende Veränderungen erleidet. Ein solcher Versuch führt zu weitgehenden Komplikationen, muß aber hier doch in seinen Konsequenzen verfolgt werden, da er von Bordet²⁾ in der Tat zur Erklärung der Erscheinungen vorgeschlagen worden ist. Man müßte danach also annehmen, daß das einheitlich gedachte Toxinmolekül Antitoxin in variablen Proportionen binden kann; je nach dem Grade der erfolgten Bindung würde das Toxin allmählich entgiftet werden, bei einer gewissen partiellen Sättigung Toxoneigenschaften annehmen und schließlich ungiftig werden, ohne deshalb notwendig seine Avidität zum Antitoxin eingebüßt haben zu müssen. Bordets Erklärungsversuch umfaßt einen Komplex von vier zuerst von Ehrlich festgestellten Erscheinungen, die sämtlich in einem inneren Zusammenhang stehen und daher bei jedem Erklärungsversuch gleichmäßig berücksichtigt werden müssen. Es sind dies folgende Punkte:

- 1) In der Giftlösung müssen mehr antitoxinbindende Gruppen vorhanden sein, als ihrer Giftigkeit entspricht.
- 2) Bei partieller Absättigung ändern sich die Eigenschaften der Giftlösung qualitativ.
- 3) Die Avidität der haptophoren Gruppen muß eine verschiedene sein.
- 4) Physiologisch neutrale Toxin-Antitoxingemische können Antikörper erzeugend wirken.

Der Unterschied der Anschauungen Ehrlichs und Bordets wird

1) Sachs, H., Ueber die Bedeutung des Danyez-Dungernschen Kriteriums. (Dies. Centralbl. Abt. 1. Bd. XXXVII. 1904. Heft 2. p. 251—261.)

2) Bordet, J., Sur le mode d'action des antitoxines sur les toxines. (Annales de l'Institut Pasteur. 1903.)

am besten klar, wenn man sich im Sinne Ehrlichs die Giftlösung etwa analog einem Gemisch verschieden avider Säuren (Salzsäure, Essigsäure etc.) vorstellt. Nach dem Bordetschen Schema würde eine mehrbasische Säure, etwa Phosphorsäure, dem einheitlich gedachten Toxin entsprechen. Je nach dem Grade der Antitoxinsättigung würde sich dann das primäre, sekundäre und tertiäre Salz bilden, deren Analoga im Sinne Ehrlichs die verschiedenen Giftindividuen (Toxin, Toxon etc.) darstellen. Die Absättigungskurve würde demnach auch nach Bordet den Anschauungen Ehrlichs entsprechen. Denn auch die 3 H-Atome der dreibasischen Phosphorsäure sind nicht gleichwertig. Die Bildung des primären Salzes erfolgt mit stärkerer Avidität als die des sekundären und die letztere wieder mit stärkerer als die des tertiären. Es würde also gleichfalls kein einheitliches Absättigungsbild entstehen, wie es Arrhenius und Madsen annehmen, sondern die Neutralisationskurve würde einen unregelmäßigen Verlauf nehmen. Es steht also auch die Auffassung Bordets im schroffsten Gegensatz zu derjenigen von Arrhenius und Madsen, so daß von einer rechnerischen Behandlung mit einer einzigen Gleichgewichtskonstante auch vom Standpunkte Bordets aus keine Rede sein kann. Ein etwaiger immunisatorischer Effekt physiologisch neutraler Gemische kann nicht auf freies Toxin, wie es Arrhenius und Madsen wollen, bezogen werden, sondern erklärt sich nach Ehrlich durch die Epitoxonoide v. Dungerns, nach Bordet durch die unvollständig gesättigten Toxinmoleküle.

Wir müssen uns auch klar darüber sein, daß man auch bei der Auffassung Bordets den Begriff der Verfestigung nicht entbehren kann, auf den wir nach unseren Ausführungen (l. c.) im Gegensatz zu Arrhenius und Madsen einen ganz besonderen Wert legen müssen. Denn wenn eine solche Verfestigung der im Ueberschuß an das Toxin gebundenen Antitoxinmoleküle nicht einträte, die Verbindung also reversibel wäre, müßte sich bei nachfolgendem Zusatz der zweiten Toxinfraktion das Antitoxin gleichmäßig über alle Toxinmoleküle verteilen, und der Endeffekt würde derselbe sein wie bei sofortigem Mischen der gesamten Toxinmenge, was nicht der Fall ist. Die Möglichkeit einer rechnerischen Behandlung wird also auch bei dieser Betrachtungsweise von vornherein abgeschnitten. Aber kann denn letztere dem vorliegenden Tatsachenmaterial überhaupt gerecht werden? Zunächst würde schon das Verständnis der Prototoxide, insbesondere die Erhöhung der Giftigkeit durch geringe Antitoxinmengen, in dem Rahmen des Bordetschen Schemas auf unüberwindliche Hindernisse stoßen, zumal wenn man die Entstehung der Prototoxoidzonen genetisch verfolgt. Dann aber muß besonders daran erinnert werden, daß Toxin- und Toxonwirkungen ja nicht allein quantitativ verschieden sind, sondern, wie beim Diphtheriegift, jede für sich ein Vergiftungsbild *sui generis* darstellen. Eine allmähliche „Entgiftung“ des Toxins würde man sich allenfalls noch vorstellen können, eine qualitative Veränderung des giftigen Prinzips ist kaum zu verstehen. Dazu kommt, daß, wie Ehrlich schon hervorgehoben hat, die Breite der Toxonzone bei den verschiedenen Giften außerordentlich schwankt (0—300 Bindungseinheiten), während man nach dem Bordetschen Schema stets ein äquivalentes Verhältnis von Toxin- und Toxonwirkung erwarten müßte. Aber man wird die Auffassung Bordets direkt als den Tatsachen nicht entsprechend zurück-

weisen, wenn man erfährt, daß Toxonwirkungen durch das Gift an sich, ohne partielle Sättigung mit Antitoxin, hervorgerufen werden können. Dieser Nachweis ist freilich bei den meisten Giften zunächst nicht zu führen, da das Diphtheriegift gewöhnlich Toxin so im Ueberschuß enthält, daß subletale Dosen zu geringe Toxonmengen enthalten, um erkennbare Wirkungen hervorzurufen. Jedoch haben Dreyer und Madsen¹⁾ ein Diphtheriegift beschrieben, das 3mal soviel Toxon als Toxin enthielt, während sonst das Verhältnis Toxon:Toxin gewöhnlich etwa 1:5 beträgt. Dieses Gift übte aber auch ohne Antitoxinzusatz in subletalen Dosen Toxonwirkungen aus, wodurch bewiesen ist, daß die Toxonwirkung mit einer partiellen Sättigung des Giftmoleküls nichts zu tun hat. Unterdessen ist auch der eleganteste Beweis dafür, daß die Diphtherietoxone primäre Sekretionsprodukte der Diphtheriebacillen sind, erbracht worden. Wie wir durch eine mündliche Mitteilung von Herrn Dr. van Calcar in Amsterdam wissen²⁾, ist es ihm gelungen, Toxin und Toxon im nativen Diphtheriegift durch eine sinnreiche Versuchsanordnung räumlich zu trennen. Damit dürften auch dem größten Skeptiker die letzten Zweifel an der Richtigkeit der von Ehrlich von Anfang an vertretenen pluralistischen Anschauung in der Toxinfrage genommen sein.

Ob außer der komplexen Konstitution der Gifte, die, wie wir gesehen haben, eine notwendige Konsequenz der experimentellen Erfahrung ist, noch ein komplizierter Bau der einzelnen Giftkomponenten im Sinne Bordets vorliegt, ist im allgemeinen vorläufig eine Frage überflüssiger Spekulation, die bei jedem einzelnen Falle erst den Gegenstand experimenteller Analyse bilden müßte, deren Bejahung aber nicht eine Vereinfachung, sondern im Gegenteil eine Komplikation für die Beurteilung der Bindungserscheinungen bedeuten würde. Es ist aber immerhin möglich, daß eine Mehrzahl haptophorer Gruppen am selben Giftmolekül bei manchen Bakteriengiften vorkommt, bei anderen nicht, und es soll auch keineswegs bestritten werden, daß es Toxinbildner geben kann, die ein einheitliches Gift produzieren. Den ersten bisher einzigen einwandsfreien Beweis dafür haben Kyes und ich ja selbst für das Hämolysin des Cobragiftes erbracht. Aber aus derartigen Einzelfällen dürfen keine verallgemeinernde Rückschlüsse auf die gesamte Toxinlehre gezogen werden, in der die experimentelle Erfahrung bisher sicherlich die primäre komplexe Konstitution als das vorherrschende Prinzip erwiesen hat.

1) Dreyer, G. and Madsen, Th., Studies on diphtheria toxin. (Festschrift v. Indvielsen af Statens Seruminstitut. Kopenhagen 1902.)

2) Anmerkung während der Korrektur: Die Arbeit ist inzwischen in No. 39 der Berl. klin. Wochenschr. erschienen.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Frage der Immunität bei der Piroplasmosis des Hundes.

Vorläufige Mitteilung.

Von Dr. A. Theiler, Pretoria (Transvaal),

Die Infektionskrankheiten der Säugetiere werden durch Mikroorganismen erzeugt, welche entweder pflanzlicher (Bakterien) oder animalischer Natur (Protozoen) sind. In den meisten Fällen bringt das Ueberstehen einer Krankheit Immunität mit sich. In Tieren, welche eine durch Bakterien verursachte Krankheit überstanden haben und immun sind, werden von neuem eingeführte Bakterien zerstört. Man findet demnach in einem immunen Tiere die Bakterien nicht mehr.

Es existiert nun unter den durch Protozoen verursachten Krankheiten eine Gruppe, nämlich die der Piroplasmen, welche von obiger Regel eine Abweichung zeigt. Die Piroplasmosis des Hundes dürfte vorerst als Beispiel dienen. Wenn ein Hund spontan durch Zeckeninfektion oder durch Verimpfung von piroplasmahaltigem Blute erkrankt und genest, so wird er gegen diese Krankheit immun. Man kann eine noch so schwere Beschickung mit pathogenen Zecken (*Haemophysalis leachi* „Andouin“) vornehmen, oder große Quantitäten virulenten Blutes einspritzen, so wird man in der Regel nicht beobachten, daß die Immunität aufhört. Das Blut immuner Hunde aber wirkt pathogen für andere empfängliche Hunde. Das *Piroplasma canis* ist im Blute immuner Tiere in noch nicht genau bekannter Form anwesend und erscheint in seiner typischen Form nach typischer Inkubationszeit im Impfling und erzeugt eine Krankheit, die von der durch Zeckeninfektion in keinerlei Weise abweicht. Es muß wohl berücksichtigt werden, daß nicht allein das Blut etwa kürzlich genesener Hunde diese Eigenschaft hat, sondern daß auch das Blut von Hunden, welche vor einem Jahre die Krankheit überstanden hatten, ebenso prompt wirkte, und ebenso wirkte das Blut alter Hunde, von denen man annehmen konnte, daß sie Jahre zuvor einmal an Piroplasmosis gelitten hatten. Man geht daher kaum irre, wenn man sagt, daß das Blut aller Hunde, welche Immunität gegenüber der Piroplasmosis zeigen, den spezifischen Krankheitserreger eine lange Zeit im Blute behält. Gestützt auf Beobachtungen in Transvaal, ist es meine Ansicht, daß es gegen die Hundepiroplasmosis keine natürliche Immunität gibt; jede beobachtete Immunität muß durch Ueberstehen der Krankheit erworben werden. Es gelang mir immer, junge abgewöhnte Hunde mit virulentem Blut zu infizieren, sodann fand ich, daß das Blut alter (immuner) Tiere, jungen Hunden eingespritzt, bei diesen die Krankheit stets gab. Wir stehen hier also vor der Tatsache, daß es Immunität gegenüber einem Mikroorganismus gibt und dennoch der Mikroorganismus im Blute der immunen Tiere lebt. Das ist übrigens schon längst bekannt beim Texasfieber. Der immune Ochse führt in seinem Blute das *Piroplasma bigeminum*.

Es war nun von Interesse zu wissen, ob unter den obwaltenden Umständen die bei Bakterienimmunität gesammelten Erfahrungen auch auf die Immunität bei der Piroplasmosis Anwendung finden. Man kann bekanntlich die Bakterienimmunität derart steigern, daß das Serum hyper-

immunisierter Tiere präventive Eigenschaften erwirbt. Dasselbe ist nun auch möglich bei der Piroplasmosis des Hundes. Zu diesem Zwecke wurde ein ziemlich alter großer Hund (No. 6) mit steigenden Quantitäten Blut von kranken jungen Hunden behandelt. Er erhielt in ungleichen Intervallen vom 18. Juni 1903 bis zum 28. Aug. 1903 die Gesamtmenge von 1115 ccm def. Blut in subkutanen Einspritzungen. Das Serum dieses Hundes wurde zu folgenden Versuchen verwendet:

I.

5. Nov. 1903. Serum Hund No. 6.

Virus: def. Blut des Hundes No. 5, welcher in der Zeit vom 26. Juni 1903 bis 1. Juli 1903 die Piroplasmosis überstanden hatte. Die Impflinge waren alle junge Hunde eines und desselben Wurfes.

Hund No. 16. Kontroll. 2 ccm Virus (def. Blut Hund No. 5).

Hund No. 13. 20 ccm Serum und 2 ccm Virus (def. Blut Hund No. 5). Beide simultan eingespritzt.

Hund No. 14. 20 ccm Serum und 24 Stunden später 2 ccm Virus (def. Blut Hund No. 5).

Hund No. 15. 2 ccm Virus und 24 Stunden später 20 ccm Serum.

Hund No. 17. Mischung von 20 ccm Serum und 2 ccm Virus (def. Blut Hund No. 5) 24 Stunden stehen gelassen.

Resultat: Kontrollhund No. 16 hatte vom 14. Nov. 1903 an *Piroplasma canis* im Blute. Am 15. Nov. 1903 wurde der Hund, da nach früherer Erfahrung dessen letales Ende sicher war, mit 20 ccm Serum 6 eingespritzt, um dessen kurativen Wert zu messen. Den 16. Nov. 1903 sind die Piroplasmen sehr zahlreich, aber viele derselben zeigen bizarre Formen. Der Hund starb während der Nacht an typischer Piroplasmosis. Die anderen Hunde zeigten keine Reaktion und waren 6 Wochen später noch am Leben. Sie verendeten alle nach dieser Zeit, da sie die enge Gefangenschaft in einem Kaninchenkäfig nicht ertragen konnten. Die Sektion wurde aber bei allen gemacht, und die mikroskopische Untersuchung ergab in jedem Falle Abwesenheit des *Piroplasma canis*.

II.

18. Nov. 1903. Serum Hund No. 6.

Virus: def. Blut des immunen Hundes No. 5. Die Impflinge entstammen demselben Wurf wie die unter Experiment I.

Hund No. 18. Mischung von 2 ccm Serum und 2 ccm Virus (def. Blut Hund No. 5).

Hund No. 19. Mischung 2 ccm Serum und 2 ccm Virus (def. Blut Hund No. 5).

Hund No. 20. Mischung 10 ccm Serum und 2 ccm Virus (def. Blut Hund No. 5).

Hund No. 21. Zentrifugen-Sediment einer Mischung von 2 ccm Virus (def. Blut Hund No. 5) und 18 ccm Serum. Das Serum war mit aq. physiol. 0,85 Proz. ausgewaschen.

Es wurde wegen Mangels eines weiteren Hundes kein Kontroll-experiment gemacht. Die nachfolgenden Experimente, in denen als Virus das Blut des Hundes No. 5 wieder verwendet wurde, beweisen, daß das Blut von Hund No. 5 beständig virulent war.

Resultat: Alle Tiere blieben am Leben. Es genügt nach obigem bereits, das Virus mit gleicher Menge Serum zu mischen, um ihm seine pathogene Wirkung zu nehmen. Das Imprägnieren mit Serum, das durch Zentrifugieren und Auswaschen entfernt wurde, genügt schon.

III.

4. Dez. 1903. Serum Hund No. 6.

Virus: def. Blut des Hundes No. 5. Die Impflinge entstammten einem Wurf eines großen Hundes.

Hund No. 22. Kontrollhund, 2 ccm Virus.

Hund No. 23. Simultanimpfung, 23 ccm Serum und 2 ccm Virus.

Hund No. 24. Simultanimpfung, 37 ccm Serum und 2 ccm Virus.

Hund No. 25. Simultanimpfung, 13 ccm Serum und 2 ccm Virus.

Resultat: Der Kontrollhund No. 22 starb den 16. Dez. 1903 an Piroplasmosis.

Hund No. 23 starb bereits am 11. Dez. 1903 an Piroplasmosis; offenbar war er vor der Impfung durch Zecken angesteckt.

Den 28. Dez. 1903 wurden die Hunde No. 18, 19, 20, 21, 24 und 25 mit je 5 ccm def. Blut des Hundes No. 5 geimpft. Das Resultat war, daß alle Hunde an Piroplasmosis erkrankten und bis auf zwei (No. 20, 25) daran verendeten; den 12. Jan. 1904 die No. 19 und 20, den 15. Jan. 1904 die No. 18 und 24.

IV.

In den vorigen Versuchen verhält sich das Serum des Hundes No. 6 gegenüber dem Virus des Hundes No. 5 in jeder Beziehung als ein präventives Serum. Es wird nun von Interesse sein, zu erfahren, ob auch das Blut des Serum liefernden Hundes virulent ist und ob dieses Serum gegenüber dem sozusagen eigenen Virus präventive Wirkung hat.

17. April 1904. Serum Hund No. 6.

Virus: def. Blut des Hundes No. 6. Die Impflinge sind alle junge Hunde.

Hund No. 37. Kontrollh. Geimpft mit 2 ccm Blut, mit der Spritze entnommen und sofort eingespritzt (undef.).

Hund No. 32. Geimpft mit 2 ccm def. Blut. Das Blut wird nach der Entnahme sofort defibriniert und so schnell als möglich auch eingespritzt.

Hund No. 34. Geimpft mit 2 ccm def. Blut, das 24 Stunden gestanden hatte.

Resultat: Der Kontrollhund No. 37 kam 6 Tage später in Fieberreaktion, zeigte am 7. Tage *Piroplasma canis* in vereinzelt Exemplaren, die täglich zunahmen, und am 14. Tage nach der Impfung verendete er an der Krankheit.

Der Hund No. 32 verendete den 2. Mai 1904 oder 15 Tage nach der Impfung an der Krankheit, er hatte nur geringgradiges Fieber gehabt, und bei der Sektion war der sonst so typische Ikterus aller Organe abwesend. Der Urin war rot und leichter Milztumor vorhanden und *Piroplasma canis* ziemlich häufig.

Der Hund No. 34 bekam Fieber den 3. Mai 1904, zeigte an demselben Tage Piroplasmen im Blute und verendete den 5. Mai 1904. Ikterus fehlte, ebenso roter Urin. Milztumor war vorhanden und die Piroplasmen sehr zahlreich.

Es ist somit der Beweis erbracht, daß das Blut des hochimmunisierten Hundes No. 6 virulent ist.

V.

Serum Hund No. 6.

Virus: def. Blut des Hundes No. 6.

Die Versuchstiere gehörten dem vorigen Wurf an; das Experiment wurde simultan mit vorigem ausgeführt (17. April 1904).

Hund No. 36. Impfung von 5 ccm Serum und 2 ccm Virus (def. Blut Hund No. 6) gemischt und die Mischung 48 Stunden stehen gelassen.

Hund No. 29. Simultane Impfung 5 ccm Serum auf einer Seite des Tieres und 2 ccm Virus (def. Blut Hund No. 6) auf der entgegengesetzten Seite.

Hund No. 30. Impfung von 5 ccm Serum und 24 Stunden später 2 ccm Virus (def. Blut Hund No. 6).

Resultat: Den 3. Mai 1904 verendete Hund No. 29 an Piroplasmosis. Ikterus fehlte, aber großer Milztumor war vorhanden. Die Piroplasmen waren nicht besonders häufig. Die übrigen beiden Hunde zeigten keine Reaktion. Es ist somit hier der Beweis geliefert, daß das Serum des Hundes No. 6 eine präventive Wirkung gegen das in seinem eigenen Blute enthaltene Virus besitzt.

VI.

Serum Hund No. 6.

Virus: def. Blut des Hundes No. 6.

Die Impfungen kommen von demselben Wurf. Versuche ebenfalls gleichzeitig mit den vorigen Experimenten ausgeführt.

Das Serum wurde eine halbe Stunde auf 55° C erhitzt und das Virus (def. Blut Hund No. 6) wurde erst zentrifugiert und mit aq. physiol. 0,85 Proz. ausgewaschen.

Hund No. 35. Mischung von 5 ccm Serum und 2 ccm def. Blut, 48 Stunden gestanden.

Hund No. 33. Simultanimpfung mit 5 ccm Serum und 2 ccm def. Blut Hund No. 6.

Hund No. 28. 5 ccm Serum und nach 24 Stunden 2 ccm def. Blut Hund 6.

Resultat: Keiner der mit Serum behandelten Hunde starb. Dieses Experiment beweist, daß das Serum eine präventive Substanz enthält, welche bei 55° nicht zerstört wird.

VII.

Die Resultate aus obigen Experimenten lassen sich folgendermaßen zusammenfassen:

1) Ein Hund, der die Piroplasmosis übersteht, erwirbt Immunität gegen diese Krankheit.

2) Das Blut eines immunen Hundes wirkt als Virus, wenn einem empfänglichen Hunde eingespritzt.

3) Durch Hochimmunisieren mit def. Blut kranker Hunde kann man ein Serum erzeugen, das präventive Wirkung hat.

4) Das Blut eines hochimmunisierten Hundes wirkt pathogen, ob es nun defibriert oder nicht defibriert zur Impfung gelangt.

5) Das Serum eines hochimmunisierten Hundes wirkt präventiv gegen die in demselben Blute vorhandenen Piroplasmen, wenn in empfängliche Hunde eingespritzt.

6) Das Serum enthält eine präventive Substanz, welche bei 55° nicht zerstört wird.

7) Der Mechanismus der Produktion des präventiven Serums im immunen Hunde scheint nach denselben Gesetzen vor sich zu gehen wie bei der Immunisation mittels Bakterien, mit dem Unterschiede, daß das Blut des hochimmunen Hundes virulent bleibt.

Nachdruck verboten.

Ueber Milzbrandantitoxin.

[Aus dem Institute für Experimentalhygiene in Buenos Aires.]

Von Prof. **Julio Mendez** in Buenos Aires.

I. Heilung des Menschen durch Milzbrandserum.

Die Heilung des Milzbrandes ist ein neuer Erfolg der Serumtherapie, und die verschiedenen Statistiken lassen zur Evidenz erkennen, daß die sichere Heilwirkung des Milzbrandserums über allen Zweifel erhaben ist, nachdem das Diphtherieserum zuerst den hohen und unschätzbaren Wert der Serumheilbehandlung dargetan hat.

In Argentinien war es, wo die Anwendung des Milzbrandserums zuerst die großartigsten Erfolge gehabt hat, und es gebührt den argentinischen Aerzten die Priorität, die praktische Brauchbarkeit und Nutzanwendung des Milzbrandserums bewiesen zu haben.

In den folgenden Zeilen soll der Versuch gemacht werden, die Statistik der mit Milzbrandserum behandelten Fälle aufzustellen, und zwar vom Beginn der Behandlung bis zum Ende des Jahres 1902, da es mir bisher nicht möglich war, die nachher bis jetzt behandelten Fälle alle statistisch zu sammeln und zu sichten.

Im Jahre 1897 war ich es, der die Heilwirkung des Karbunkelserums entdeckte, indem ich zuerst angefangen hatte mit Studien über das Milzbrandvaccin, das ich im Januar 1898 zum ersten Male praktisch beim Menschen erproben konnte, und zwar gleich mit einem absolut sicheren Resultate.

Seitdem konnte ich in verschiedenen Publikationen seine Wirksamkeit mitteilen, und diese Tatsachen sind mir im Laufe der Zeit von allen Aerzten ausnahmslos bestätigt worden.

In der Zwischenzeit war ich selbstverständlich stets bemüht, das Serum immer mehr zu vervollkommen und wirksamer zu machen. Heute verkaufe ich unter dem Namen „Antitoxina carbunculosa“ ein Präparat, von dem 3 ccm vollständig genügen, um den beim Menschen ausgebrochenen äußeren Milzbrand zur kompletten Heilung zu bringen. Auch in anderen Ländern hat man mit Milzbrandserum Resultate erzielt.

In Italien hat Sclavo meine Studien nachgeprüft und wörtlich bestätigt gefunden.

In Deutschland und neuerdings in Ungarn und Rußland bestätigen verschiedene Forscher meine Laboratoriumsarbeiten, ohne jedoch etwas über gelungene Heilungen am Menschen selbst zu bringen.

Alle Fälle, soweit sie bis heute bekannt geworden sind, umfassen die nachfolgenden Daten:

Mendez	25
Dasso	105
Cenuti	20
Gómez	11
Mendez	1073

Die letzten Zahlen von Mendez sind gesammelt aus Berichten, die mir durch Aerzte zuzingen, die mein Serum angewandt haben.

Unter diesen Fällen waren die schwersten, wo der Milzbrand im Gesicht und am Hals auftrat, zum Teil auch weil sie mit starken Oedemen verbunden waren, die durch Behinderung des Atems große Komplikationen darboten. In einzelnen Fällen sind Fieber von 41—42° (Fall von Berga) beobachtet worden.

In 5 Proz. der Fälle konnte man in einer Gegend mehrere Pusteln beobachten, so z. B. im Falle von M. Gil 36 Pusteln am Arm und Vorderarm.

Einen ähnlichen Fall beobachtete Rena im Isolierhospital Tesis (von Dasso), wo am Arme 52 Pusteln auftraten. Wegen Glottisödem mußten 2 Fälle tracheotomiert werden, einer davon genas.

Die Seruminjektionen wurden fast ausnahmslos in 4—8 Tagen gemacht. Der kleinste Kranke war ein Säugling von 8 Monaten mit einer Pustel im Inneren der Unterlippe, die er von der Mutter acquiriert hatte. Mutter und Kind genasen beide völlig (Cryspo Entre Rios).

Dasso berichtet, daß er zwei Schwangere im 8. Monate behandelt hat.

Die Mortalität war bei 1073 Fällen 44, also 4,19 Proz., während die früheren Statistiken, unter anderen auch W. Koch, angeben, daß die Mortalität 20 Proz. sei und bei Kopfkarbunkel 35—40 Proz.

Die Todesursachen waren erklärlich durch Oedeme der Glottis und des Halses, bei anderen durch Myocarditis und Atherom, bei weiteren durch Alkoholismus, und endlich war bei einigen das Serum erst in der Agonie angewandt worden.

In Rücksicht auf alles dieses ist der Erfolg unzweifelhaft, und wenn Dasso 8,57 Proz. als günstig angibt, so ist 4,19 Proz. doch wohl ein Resultat, welches über allen Zweifel erhaben ist.

Einen Teil der Mißerfolge kann man in Zukunft vermeiden, denn jetzt fängt das Publikum an, auf die günstigen Erfolge des Serums aufmerksam zu werden, und da kommt der Arzt immer früher zum Impfen.

Darquier berichtet, daß er in einem Falle 20 Injektionen gemacht hat.

Die Wirkung, die das Serum im kranken Körper ausübte, konnte einen wertvollen Beitrag liefern zu der Frage, wie eigentlich der Tod beim Milzbrand zu stande kommt. Bisher nahm man an, daß es lediglich eine Septikämie sei, indem die Milzbrandkeime sich im Blute ins Ungemessene vermehrten. Einstweilen wollen wir alle Theorie beiseite lassen und uns nur an die nackten Tatsachen halten. Da kann man indes Beobachtungen machen, die den Theorien diametral entgegenstehen.

In Wirklichkeit nämlich hat man bei den Autopsieen, soweit sie veröffentlicht sind, weder im Blute des Menschen noch in den Organen Bakterien gefunden. In den 6 Autopsieen, die ich selbst gemacht habe, konnte ich nur ein einziges Mal sehr wenig Mikroben finden, und zwar in der Milz, in anderen aus der Lunge, in diesem Falle aber handelte es sich um eine direkte Infektion.

Hieraus ergibt sich, daß die Anwesenheit von Bakterien im Blute immer nur zu den Ausnahmen gehört, und will ich dabei noch bemerken, daß es notwendig ist, die Sektion sofort nach dem Tode zu machen, da sonst postmortale Erscheinungen leicht zu Irrtümern Anlaß geben.

Die nähere Untersuchung der Krankheit zeigt, daß die primäre Läsion für längere Zeit in der Haut lokalisiert bleibt; erst später schieben sich die Bakterien allmählich in die Umgebung vor, verursachen dabei ein mehr oder weniger großes Oedem und ergreifen dabei die umliegenden Lymphbahnen; erst dann entsteht Fieber und Allgemeinerscheinungen. In diesem Stadium aber greift die Entzündung nur auf die nächstliegenden Ganglien über und diese halten die Entzündung auf, so daß sie nicht weiter um sich greift. Die Schwere des Allgemeinleidens, die in dieser Periode der Krankheit auftritt, ist bedingt durch die Einwanderung der Mikroorganismen in das Blut, die Cyanosis, Dyspnoe und Delirien, die dabei auftreten, sind indes nicht mit dem Namen Septikämie erklärt, sondern sind Erscheinungen der Intoxikation.

Daß es sich in der Tat um Intoxikation und nicht um Septikämie handelt, beweisen die Autopsien wie auch die Experimente von Bachmann, und mehr als all dieses die Resultate meines Serums. Diese Effekte habe ich zuerst publiziert im Congreso científico latino americano. 1898 und sie sind später von allen Aerzten, die das Serum angewandt haben, bestätigt.

Zuerst bemerkt man ein Abfallen der Temperatur 12—24 Stunden nach der 1. Injektion. Ausnahmsweise (bei hoher Virulenz etc.) tritt der Abfall erst nach 48 Stunden ein.

Dieser Abfall macht sich ohne Erhebung geltend, wie ich und andere Aerzte gezeigt haben, dagegen beobachtete Cenuiti, der vor und nach der Injektion sorgsam Messungen anstellte, in einigen Fällen eine kurze Steigerung, von der er der Meinung war, daß sie eine Wirkung des Fiebers sei.

Sclavo hingegen war der Ansicht, daß es sich dabei um eine Reaktion des Körpers handelt, hervorgerufen durch Serum.

Diese Beobachtungen sind wohl bedingt durch das wenig wirksame Serum, welches auch wirkte durch die große Menge der Flüssigkeit wie die Salzwasserdermolysen, die auch Temperatursteigerungen verursachen. Und weiterhin ist die Idee des Autors nicht vom pathogenetischen Gesichtspunkte akzeptierbar, weil die Serumimmunität eine passive ist, die ohne Beteiligung des Organismus zu stande kommt, und weil sie bei unserem hochaktiven Serum fehlt.

Der Temperaturabstieg aber ist um so bemerkenswerter, weil derselbe bei früheren Injektionen, die mit Karbol etc. gemacht wurden, fehlte.

Gleichzeitig mit der Temperatur fallen Puls und Atmung. Andere Erscheinungen sind das subjektive Wohlbefinden, das bei dem Kranken nach dem Serum eintritt, und auch eintritt, wenn die Kranken gesund werden. Das Oedem schwindet nach 4—24 Stunden und ist ganz geschwunden am 2. Tage der Injektion. Dieses tritt ein ohne lokale Reaktion, indem lediglich die Flüssigkeit abgesogen wird, was ähnlich vor sich geht, wie die Absorption der pneumonischen Exsudate.

Die Drüsen schwellen später ab und auch die Schmerzen verlieren sich erst später.

In den vorgeschrittenen Stadien verschwinden diese Erscheinungen, wie Cyanose, Dyspnoe etc., manchmal so schnell, daß der Arzt selbst erstaunt ist über die wunderbaren Effekte.

Man kann deshalb mit Fug und Recht von einer wahren Krise sprechen, ganz ähnlich der Krisis, die der Kliniker bei der Pneumonie-

und Diphtherieheilung nach Behring beobachtet. Die Bakteriologie beweist uns, daß dieses geschieht durch Neutralisation der Toxine durch die Antitoxine.

II. Wertbestimmung der antitoxischen Einheiten.

Die Wertbestimmung des Antikarbunkelserums ist eine sehr wichtige Frage wegen der Dosierung für den Menschen. Der verschiedene Wert bei verschiedenen Tieren wie auch bei verschiedenen Aderlässen bei einem Tiere verlangt eine genaue Graduierung. Seit 1898 habe ich diese an Kaninchen und Meerschweinchen festzustellen versucht unter Berücksichtigung der verschiedenen Virulenz.

Anfangs spritzten wir 20 ccm Serum beim Menschen ein und nur einmal.

In Berücksichtigung der großen Flüssigkeitsmengen impfte ich Kaninchen als weniger empfängliche Tiere.

Später genügten vom besseren Serum 10 ccm für den Menschen.

Wenn man unter die Haut eines Meerschweinchens mit der tödlichen Dosis des Virus 1,5 ccm Serum einspritzt, bleibt das Tier gesund, ohne Gewichtsverlust, während das Kontrolltier, mit derselben Virusmenge geimpft, in 36—40 Stunden tot ist.

Seit 1903 habe ich ein Serum, von dem 3 ccm den Menschen heilen. Dieses Serum bezeichne ich als „Antitoxina carbunculosa“ und dieses wird momentan gebraucht.

Die Wertschätzung der Einheiten nach Behring und der Effekt, den ich beim Menschen als ausreichend erkannte bei den verschiedenen Seren, haben mir die Basis gegeben, 3 ccm als entsprechend 1500 I.E. zu geben.

Die Methode unterscheidet sich von der bekannten von Ehrlich-Behring durch Anwendung des Virus gegen das Gift.

Die Aktion des Virus, die ich in früheren Arbeiten zeigte, muß bekannt sein, um den Wert der Dosis minima letalis zu kennen, um Irrtümer zu vermeiden.

Beim Milzbrand gibt es keine Komplexizität von sekundären Produkten wie bei Diphtherie, aber dafür gibt es viele Virulenzabstufungen, die um so größer sind, je mehr Zeit die Entwicklung dauerte. Kulturen von 12, 24 und 48 Stunden zeigen nicht nur Differenzen in der Keimzahl, sondern auch in der Virulenz. Diese Differenz macht sich unangenehm bemerkbar, wenn man mit Minimaldosen arbeitet bei Gegenwart von Serum, und nur dann, so daß sie früheren Autoren entgehen konnte.

Unter dem biologischen Gesichtspunkt ist diese Erscheinung im Tier komplett undispensierbar, wie das Experiment zeigt.

In meiner Arbeit von 1900 „Immunität“ habe ich unter dem Titel „Gesetze der Infektion“ die diversen Zustände der Alteration im Tierkörper beschrieben. Diese Zustände, die von der Virulenz abhängen und dem Immunitätsgrade der Tiere, zeigen die Notwendigkeit, junge Kulturen von großer Virulenz und wenig Mikroorganismen zu injizieren. So macht man die Aktion des Organismus gegen das Virus überflüssig und entfaltet indirekt ihre pathogenen Eigenschaften. In dieser Weise erhält man durch Mischung von Serum und Kultur mehr oder weniger vollkommene Neutralisation, ähnlich wie im Reagenzglase, nur daß das Tier anzeigt, ob Serum oder Virus prävaliert. Hieraus ergibt sich, daß man sowohl mit der Dosis minima von Bacillen wie von Virulenz arbeiten muß. Es ist leicht, diese Beobachtungen zu kontrollieren.

Wenn man Meerschweinchen vom selben Gewicht subkutan 0,02—0,09—0,1—0,4 einspritzt, erfolgt der Tod in derselben Zeit, und was noch merkwürdiger ist, 1 ccm derselben Dosis tötet später als kleine Dosen.

Dasselbe beobachtet man bei anderem Virus und Toxinen. Mehrfache letale Dosen töten in gleicher Zeit wie Diphtheriegift.

Hieraus kann man den Satz ableiten, daß Virus und Toxin denselben Effekt haben bei vielfach tödlichen Dosen.

Diese Schlußfolgerungen sind nicht gut berücksichtigt bei der Methode von Ehrlich, wenn man annimmt, daß die Dosis minima am 4. Tage tötet und auf der anderen Seite, wenn man abgeschwächte Kulturen hat.

Diese Betrachtungen sind das Produkt vieler Studien und gestatten mir heute, die Methode aufzustellen.

Die Auswahl des Virus verlangt verschiedene Anforderungen.

Wir wissen, daß Tierpassagen die Virulenz bis zu einem gewissen Endpunkte steigern, so beim Meerschweinchen und beim Kaninchen.

Diese Aktivität des Virus ist aber der durch Rinderpassagen gewonnenen nicht gleich. Deshalb wähle ich nur vom Rinde gewonnene Kulturen.

Die Kulturen werden in Rindfleischbouillon gewonnen, die geimpft wird mit Sporenmaterial, das auf Glasplättchen aufbewahrt wird. Um stets gleich wirksame Kulturen zu haben, läßt man sie 24 Stunden im Brütöfen bei 37° C. Um die Minimalvirulenz festzustellen, impft man eine Serie Meerschweinchen von 300—360 g subkutan und wartet, welche Dosis minima in kürzester Zeit tötet.

Dosis minima mortal. (Virus No. 720).

Meerschweinchen	1903					
	3. März	4. März	5. März	6. März	7. März	
0,000001 ccm	350 g	350 g Oedem	† 34 Stdn. Bac. im Blute			
0,0000005 "	350 "	350 g klein. Oedem	340 g klein. Oedem	340 g klein. Oedem	340 g	10. März lebt
0,0000001 "	350 "	350 g klein. Oedem	350 g klein. Oedem	350 g klein. Oedem	350 "	10. März lebt

Diese Tabelle zeigt, daß die tödliche Dosis 1 Millionstel Kubikcentimeter ist, während kleinere Dosen nur Oedem erzeugen. Um den Serumwert zu kennen, mischt man 1000 tödliche Dosen = 0,001 (s. Tabelle) mit verschiedenen Serummengen und füllt mit destilliertem Wasser auf 3 ccm. Diese Dosis wird subkutan injiziert.

Die Serumdosis, die das Leben um 6—8 Stunden mehr verlängert als das des Kontrolltieres, repräsentiert $\frac{1}{2}$ I.E.

So beobachtet man z. B., wenn man einem Meerschweinchen die Mischung von 1000 Dosis m. m. und einem 0,001 vom Serum von 500 Einheiten pro Kubikcentimeter einspritzt, daß das Tier zwischen 40 und 42 Stunden stirbt, während das Kontrolltier in 34 Stunden stirbt.

Um sicher zu sein, muß man eine Serie mit größeren und kleineren Serumdosen machen.

Protokoll.

Meerschweinchen	1903				
	5. Novbr.	6. Novbr.	7. Novbr.	8. Novbr.	9. Novbr.
0,001 ccm Virus	340 g	350 g	† 40 Std.		
0,01 „ Serum		klein. Oedem			
0,001 ccm Virus	360 „	360 g	360 g	350 g	†
0,012 „ Serum		klein. Oedem	klein. Oedem	großes Oedem	
0,001 ccm Virus	330 „	340 g	†		
0,009 „ Serum					
0,000 000 1 ccm Virus	350 „	350 „	† 30 Std.		
		großes Oedem			

Ich will hier keine Betrachtungen anstellen über die Gründe, diese Graduationen eingeführt zu haben, nachdem Ehrlich dieses bereits in seinen neuen Graduationen des Diphtherieantitoxins getan hat.

Der Tod der Meerschweinchen tritt so bestimmt ein, daß eine Exaktheit des Experimentes möglich ist, während, wenn das Tier lebend bleibt, die Versuche nicht so exakt ausfallen.

Ich habe die Simultanmethode bevorzugt, weil sie uns bessere Resultate gab, da sie einfacher ist.

Die Wirkung des Antitoxins vor und nach der Virusapplikation zeigt evident den immunisierenden und Heilwert des Serums, wie die Tabelle zeigt (Serum 1 Millionstel, Virus 1 Millesium).

	1903			überlebende Zeiddauer		
	21. Dez.	22. Dez.	23. Dez.	Std.	Std.	
1) Serum 24 Std. vor Virus	330 g	330 g Oedem	330 g	† 52	3	Serum 12—24 Std. vorher injiziert, verzögert den Tod um 72 resp. 52 Std. Bei gleicher Injektion von Serum 12—24 Std. später sterben sie in 56 resp. 46 Std. Bei gleichzeitiger Injektion sterben die Tiere in 24 Std. Hieraus ergibt sich, daß die Immunwirkung und Heilwirkung bis zu 24 Std. größer ist als die gleichzeitige Wirkung von Serum und Virus.
2) „ 12 „ „ „	320 „	330 g Oedem	330 „ Oedem	† 74	1	
3) „ u. Virus gleichzeitig.	340 „	340 g kl. Oed.	†	40	5	
4) Virus 12 Std. später	310 „	310 g	310 g Oedem	† 56	2	
5) „ 24 „ „	300 „	300 „	300 g Oedem	† 46	4	
6) „ allein	310 „	310 „ Oedem	†	34	6	

Diese Tatsachen, mit denen ich meine Arbeit schließe, sind über jede Interpretation erhaben.

Nachdruck verboten.

Ueber die Gewöhnung der Milzbrandbacillen an die bakterizide Wirkung des Serums.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Gießen. Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Gaffky.]

Von Dr. G. Sacharoff (aus Moskau).

Versuche über die Gewöhnung von Bakterien an bakterizides Serum wurden bisher meist mit Typhus- und Cholerabakterien angestellt; von solchen mit Milzbrandbacillen konnte ich nur folgende in der Literatur finden:

Székelly konnte nachweisen, daß Milzbrandbacillen an die bakterizide Wirkung von defibriniertem Blute oder Serum gewöhnt werden konnten, allerdings langsamer als Staphylokokken.

Sawtschenko berichtet, daß es ihm leicht gelungen sei, das zweite Vaccin des Milzbrandes an Rattenserum zu gewöhnen, indem er zuerst kleine, dann stärkere Dosen zum Nährboden hinzufügte. Dieselbe Gewöhnung erhielt er auch bei Züchtung in Taubenserum, das nur schwach, und in Pferdeserum, das stark bakterizid ist.

Auch Danysz bestätigte die Möglichkeit, die Milzbrandbacillen gegen Rattenserum zu immunisieren; er fand dabei, daß, wenn man die Bacillen in allmählich zunehmenden Dosen des Serums züchtet, die Immunisation zuerst sehr rasch, dann immer langsamer zunimmt. — Die immunisierten Bakterien „fixieren“ im Serum eine fast zweimal größere Menge der bakteriziden Stoffe als normale; auch das Filtrat ihrer Bouillonkultur neutralisiert sie in höherem Grade als das von gewöhnlichen Bouillonkulturen.

Shaw hat durch Züchtung der Milzbrandbacillen auf Blutserumagar (menschliches Serum) eine Steigerung der Virulenz erzielt. In der 5. Generation war die Virulenz bereits 4mal größer als anfangs; weiter konnte sie nicht mehr erhöht werden, obwohl die Umzüchtung bis zur 14. Generation fortgesetzt wurde.

Da diese Versuche noch nicht hinreichend zu beweisen schienen, daß eine Immunisierbarkeit gegen bakterizides Serum beim Milzbrandbacillus in gleicher Weise besteht wie bei anderen Bakterien, so suchte ich die Frage durch eine neue Reihe von Versuchen zu entscheiden. Ich verwandte dabei nicht Vaccin, sondern einen virulenten Laboratoriumsstamm. Dieser bot gewisse Schwierigkeiten infolge seiner Neigung zur Kettenbildung; denn eine Kette wird selbstverständlich erst durch größere Mengen Serum abgetötet als ein einzelner Bacillus; andererseits ergibt sie ebensogut nur eine einzelne Kolonie wie dieser, so daß hieraus leicht Versuchsfehler entstehen können. Ich suchte diese dadurch zu vermeiden, daß ich die Flüssigkeitskulturen gründlich von Zeit zu Zeit umschüttelte resp. die Agarkulturen möglichst fein verrieb, dann absetzen ließ und nur aus der mittleren Flüssigkeitsschicht entnahm. Mikroskopische Präparate, die bei jedem einzelnen Versuche angefertigt wurden, zeigten auch, daß die Bacillen recht gut verteilt waren, jedenfalls in den Serumkulturen in derselben Weise wie in den Kontrollkulturen.

Zur Versuchstechnik sei noch folgendes bemerkt: Die angegebenen

Zahlen der Kolonien sind stets das Mittel aus zwei Platten. — Um das Ausgangsmaterial möglichst sporenfrei zu machen, benutzte ich nicht einen Laboratoriumsstamm, sondern Blut aus dem Herzen eines an Milzbrand gestorbenen Meerschweinchens. Zuerst vollzog ich die Züchtung der Milzbrandbacillen im defibrinierten Kaninchenblut, dann aber in frischem Kaninchenserum. Die Menge des betreffenden Blutes oder Serums war nicht immer gleich. Die Umzüchtung fand alle 2 Tage statt. Infolge der Bemühungen, die Fäden zu vermeiden, war die Aussaat gewöhnlich gering: nur bei den ersten Versuchen, wo Blut, und zwar in kleinen Mengen, benutzt war, war auch die Aussaat verhältnismäßig groß.

Im folgenden teile ich diese Versuche in extenso mit.

Aus dem Blut des Herzens des an Milzbrand gestorbenen Meerschweinchens wurden je 4 Tropfen in 2 Röhrchen eingeführt: in dem einen von diesen befand sich 1 ccm defibriniertes Kaninchenblut (aus der Ohrvene); in dem anderen 1 ccm Bouillon. Beide Röhrchen standen im Brutschrank. Die stets nach 48 Stunden vorgenommene Umzüchtung wurde zunächst ohne Zählung bis zur 3. Generation fortgesetzt: das nächste Ergebnis war folgendes:

No. 1. Ergebnis bei Uebertragung		
der 3mal in defibriniertem Blut umgezüch-	Kontrollbouillonkultur desselben Alters	
teten Kultur	in 1 ccm defibriniertes Kaninchenblut	
Aussaat	420	440
6 Std.	30	80
24 "	2500	2800

No. 2. Ergebnis bei Uebertragung		
der 4mal in defibriniertem Blut umgezüch-	Agaraufschwemmung (Kontrolle)	
teten Kultur	in 1 ccm defibriniertes Kaninchenblut	
Aussaat	180	60
6 Std.	0	2
24 "	1600	2800

No. 3. Ergebnis bei Uebertragung		
der 5mal in defibriniertem Blut umgezüch-	Agaraufschwemmung (Kontrolle)	
teten Kultur	in 1 ccm defibriniertes Kaninchenblut	
Aussaat	200	350
6 Std.	303	0
24 "	2560	580

No. 4. Ergebnis bei Uebertragung		
der 6mal in defibriniertem Blut umgezüch-	Agaraufschwemmung (Kontrolle)	
teten Kultur	in 3 ccm defibriniertes Kaninchenblut (aus Carotis)	
Aussaat	22	42
4 1/2 Std.	0	1
24 "	2560	3580

No. 5. Ergebnis bei Uebertragung		
der 7mal in defibriniertem Blut umgezüch-	Agaraufschwemmung (Kontrolle)	
teten Kultur	in 4 ccm defibriniertes Kaninchenblut	
Aussaat	18	20
6 Std.	0	0
24 "	3200	215

Wie man aus diesen Tabellen sehen kann, sind die Versuche, die Milzbrandbacillen an Bakterizidität des defibrinierten Kaninchenblutes

durch Züchtung in demselben zu gewöhnen, nicht ermutigend: nach 6 Passagen ist kein Zeichen von Anpassung zu bemerken. Deshalb wurde in den folgenden Versuchen Kaninchenserum benutzt.

No. 6. Ergebnis bei Uebertragung

der 8mal in defibriniertem Kaninchenblut umgezüchteten Kultur		Kontrollbouillonkultur
in 3 ccm Kaninchenserum		
Aussaat	11	12
6 Std.	1	0
24 "	65	0

No. 7. Ergebnis bei Uebertragung

der 8mal in defibriniertem Blut und 1mal in Kaninchenserum umgezüchteten Kultur		Kontrollbouillonkultur
in 3 ccm Kaninchenserum		
Aussaat	60	4
6 Std.	1	0
24 "	0	0
48 "	120	0

No. 8. Ergebnis bei Uebertragung

der 8mal in Blut, 4mal in Serum umge- züchteten Kultur		Kontrollbouillonkultur
in 3 ccm Kaninchenserum		
Aussaat	15	6
6 Std.	160	0
24 "	1900	72

No. 9. Ergebnis bei Uebertragung

der 8mal in Blut, 5mal in Serum umge- züchteten Kultur		Kontrollbouillonkultur
in 4 ccm Kaninchenserum		
Aussaat	2	28
2 Std.	13	0
5 "	117	0
24 "	2520	0

No. 10. Ergebnis bei Uebertragung

der 8mal in Blut, 6mal in Serum umge- züchteten Kultur		Kontrollbouillonkultur
in 3 ccm Kaninchenserum		
Aussaat	6	7
5 Std.	5	0
24 "	1500	0

No. 11. Ergebnis bei Uebertragung

der 8mal in Blut, 7mal in Serum umge- züchteten Kultur		Kontrollbouillonkultur
in 5 ccm Kaninchenserum		
Aussaat	8	2
2 Std.	4	0
5 "	2	0
24 "	570	0

No. 12. Ergebnis bei Uebertragung

der 8mal in Blut, 8mal in Kaninchenserum umgezüchteten Kultur		Kontrollbouillonkultur
in 4 ccm Kaninchenserum		
Aussaat	1	3
6 Std.	14	0
24 "	640	0

Die Versuche mit Serum stehen also nicht im Einklang mit den vorhergehenden: während die letzteren nach 8 Passagen die Widerstandsfähigkeit der Milzbrandbacillen gegen die bakterizide Wirkung des Blutes nicht erhöht hatten, ergaben erstere in dieser Hinsicht einen besseren

Erfolg. Doch scheint auch die Züchtung in defibriniertem Blute nicht ohne Einfluß auf die Widerstandsfähigkeit gewesen zu sein, denn schon in den ersten Versuchen mit Serum (No. 6 und 7) fand im Gegensatze zu der Kontrollkultur keine völlige Abtötung statt. Allerdings war erst nach 4 Passagen durch Kaninchenserum Serumfestigkeit erreicht in dem Sinne, daß die „Serumbacillen“ ohne vorläufige Verminderung ihrer Zahl schon nach 6 Stunden eine rasche Vermehrung zeigten. Daß trotzdem später noch manchmal anfängliche Abtötung der Bacillen erfolgte, könnte vielleicht mit einem höheren Gehalte dieser Sera an bakteriziden Stoffen zusammenhängen.

Cohn hat die Veränderung studiert, welche die erworbene Serumfestigkeit der Typhusbacillen erfährt, wenn die Kulturen bei verschiedener Temperatur aufbewahrt werden und bemerkt, daß im Brutschrank eine stärkere Abnahme als bei Zimmertemperatur erfolgt. Ich wollte denselben Einfluß auch bei meinen Milzbrandbacillen untersuchen.

Zu diesem Zwecke waren zwei Röhrchen, von welchen jedes 4 ccm Kaninchenserum enthielt, mit „Serumbacillen“ beschickt, die schon 8 Passagen durch defibriniertes Blut und 8 durch Serum durchgemacht hatten. Zuerst wurde der Grad der Serumfestigkeit jedes dieser beiden Serumröhrchen festgestellt und dann ein Röhrchen in den Brutschrank, ein anderes bei Zimmertemperatur unter Ausschluß von Licht gestellt. Als Kontrolle dienten zwei Bouillonkulturen, von denen ebenfalls eine in den Brutschrank, eine andere bei Zimmertemperatur gestellt wurde.

No. 13. Feststellung der Serumfestigkeit

des Serumröhrchens I	des Serumröhrchens II	Bouillonkontrollkultur desselben Alters (2-tägige)
Aussaat 1	4	3
6 Std. 14	18	0
24 „ 640	2400	0

No. 14. Ergebnis bei Uebertragung nach 7-tägiger Aufbewahrung

des Serumröhrchens I (Brutschrank, 3 Oesen)	des Serumröhrchens II (Zimmertemperatur, 1 Oese) in 2 ccm Kaninchenserum	7-tägiger Bouillonkontrollkultur (Brutschrank, 8 Oesen)	7-tägiger Bouillonkontrollkultur (Zimmertemperatur, 8 Oesen)
Aussaat 17	25	10	14
5 Std. 0	0	0	0
24 „ 5	960	0	0

No. 15. Ergebnis bei Uebertragung nach 9-tägiger Aufbewahrung

des Serumröhrchens I (Brutschrank, 8 Oesen)	des Serumröhrchens II (Zimmertemperatur, 1 Oese) in 2 ccm Kaninchenserum	9-tägiger Bouillonkultur (Brutschrank, 8 Oesen)	9-tägiger Bouillonkultur (Zimmertemperatur, 8 Oesen)
Aussaat 15	13	13	9
4 Std. 1	7	0	0
24 „ 0	0	0	0

Die Zahlen dieser Tabellen lassen ersehen, daß nach 7 Tagen eine deutliche Abnahme der Widerstandsfähigkeit der Milzbrandbacillen stattgefunden hat: in der Tat, während im Versuche No. 13 die Bacillen schon nach 6 Stunden sich vermehrten, konnten sie dies im Versuche No. 14 erst nach 24 Stunden, und im Versuche No. 15 waren sie nach bedeutender Verminderung in der Zahl in der Zwischenzeit ganz abgetötet. Doch ist auch hier ein Unterschied zwischen Serum- und Kontrollkultur zu bemerken, so daß von vollem Verschwinden der Serumfestigkeit

höchstens bei Versuch No. 15 die Rede sein kann. Was jetzt den Einfluß der Temperatur auf die Serumfestigkeit anbetrifft, so sind die Ergebnisse infolge rascher Abnahme der letzteren nicht entscheidend: doch scheint es, wenn man die zwei ersten Reihen der Tabellen No. 14 und No. 15 in Betracht nimmt, daß diese Abnahme bei Brutschranktemperatur etwas rascher als bei Zimmertemperatur vor sich geht. Der Einwand, daß es sich hier nicht um Abnahme der Serumfestigkeit, sondern bloß um ein stärker bakterizides Serum handelt, ist kaum möglich, weil erstens in früheren Versuchen (No. 8—13) eine volle Abtötung der „Serumbacillen“ niemals stattgefunden hat, obgleich Kaninchensera verschiedener Bakterizidität gebraucht waren, und zweitens, weil man eine regelmäßige Abnahme der Widerstandsfähigkeit in den Versuchen No. 14 und No. 15 bemerken kann.

Die so rasch eintretende Abnahme der „Serumfestigkeit“ hat desto größeres Interesse, als die von Cohn immunisierten Typhusbacillen diese Immunität während vieler Wochen bewahrten und erst ganz allmählich verloren. In Widerspruch steht diese Erscheinung auch mit dem gut bekannten Faktum, daß die langsam abgeschwächte Virulenz der Milzbrandbacillen sehr lange Zeit auf demselben Grad stehen bleibt. Wahrscheinlich kann man diesen Widerspruch dadurch erklären, daß in meinem Falle die Bacillen nicht genügend immunisiert waren: die „Serumfestigkeit“ konnte noch nicht ihre unabänderliche Eigenschaft sein. Zu Gunsten solcher Erklärung spricht nach meiner Meinung auch der Umstand, daß es mir erst nach 4 neuen Passagen durch frisches Kaninchenserum gelungen ist, die verlorene Widerstandsfähigkeit wiederzugeben, während bei Cohn schon eine einmalige Passage genügte, um die Bacillen zu „erfrischen“, indem die angeblich verlorene Eigenschaft aus latentem Zustand in aktiven überging. Vielleicht sind aber auch die Unterschiede zwischen meinen Versuchen und denen Cohns dadurch zu erklären, daß Cohn mit Typhus-, ich mit Milzbrandbacillen arbeitete.

Was die Frage anbetrifft, ob die Serumfestigkeit auf die nachfolgenden Generationen übergehen könne, die gar keine Gelegenheit hatten, mit dem Serum in Berührung zu kommen, so ist die Möglichkeit eines solchen Ueberganges aus folgendem Versuche zu ersehen:

Die Kultur der serumfesten Bacillen (aus Versuch No. 12) war in Bouillon umgezüchtet worden. Nach 24 Stunden nochmalige Umzüchtung in Bouillon. Dann Umzüchtung auf Agar und von der Agarkultur Aufschwemmung in Kochsalzlösung. (In Bouillon bekommt die Kultur der serumfesten Bacillen eine flockenartige Form, die die Berechnung der Keimzahl sehr erschwert.) Dasselbe war auch mit der Kontrollkultur gemacht worden.

Ergebnis bei Uebertragung in 3 ccm Kaninchenserum			
der Serumkultur in 3. Generation		Kontrollkultur	
Aussaat	30		10
5 Std.	14		0
24 „	640		0

Obgleich die Zahl der Bacillen sich auf die Hälfte verminderte, konnten sie sich doch nach 24 Stunden wieder vermehren, während die Kontrollkultur abgetötet war. Doch habe ich keine weitere Beobachtungen in dieser Richtung gemacht.

Es seien hier noch morphologische Veränderungen erwähnt, die man bei immunisierten Bacillen konstatieren kann. Eine Kultur

der Bacillen, die schon einige Male durch frisches Serum passiert und schon einen gewissen Grad von Widerstandsfähigkeit erworben hat, bekommt bei Umzüchtung aus Serum in Bouillon ein flockenförmiges Aussehen. Die Flocken haben große Neigung, sich an die Wände des Röhrchens anzuhängen; beim Schütteln zerfallen sie nicht und hängen an der Platinöse wie eine dehnbare schleimartige Masse. Diese morphologische Eigenschaft erhält sich ziemlich lange Zeit: so wurde sie auch in einer Kultur, die 9mal in Bouillon umgezüchtet war, konstatiert. Dieselbe Eigenschaft, nur nicht in demselben Grad, ist auch bei Umzüchtung auf Agar zu bemerken. Die mikroskopische Untersuchung ließ keine Veränderungen in dem Bau der Bacillen bemerken: es gelang nicht, eine Kapsel zu sehen, wenigstens nicht mit Hilfe der gewöhnlichen Färbungsmethoden mit Methylenblau und Ziehlschem Fuchsin. — Es ist interessant, zu bemerken, daß morphologische Veränderungen auch von anderen Autoren bei den immunisierten Bakterien konstatiert waren. Wenn man z. B. nach Danysz das erste Milzbrandvaccin immunisiert, kann man sehen, daß die immunisierten Bakterien größer und von einer Schleimhülle umgeben sind. Bei den Versuchen, solche Kultur in Aqua dest. oder Kochsalzlösung zu emulgieren, suspendiert sie sich nicht, wie das Vaccin, sondern fällt auf den Boden, wie das Virus. Die Schleimhülle kann man nur in Agar-, nicht aber in Bouillonkulturen bemerken. Die erworbene morphologische Eigenschaft erhält sich lange Zeit, sogar während 3 Monate. Laubenheimer hat gefunden, daß Züchtung der Typhusbacillen in spezifischem Immunserum morphologische Veränderungen hervorruft, wie Polfärbung, Kettenbildung und Pleomorphismus. Die Neigung zur Haufenbildung oder, wie man sagt, zur „spontanen Agglutination“, wurde auch hier konstatiert. Nach Issaëff unterscheidet sich bedeutend das Aussehen der Pneumokokkenkulturen, die im Serum der vaccinierten Kaninchen gezüchtet sind, von dem der Pneumokokken, die in normalem Serum gewachsen waren. In letzterem machen die Mikroben diffuse Trübung; in ersterem fallen sie teils auf den Boden, teils hängen sie an den Wänden des Gefäßes, während sie die Flüssigkeit klar lassen. Dasselbe hat auch Hamburger in Bezug auf die Choleravibrien, die in spezifischem Choleraserum wuchsen, gefunden.

Um die Frage zu lösen, wie die Virulenz der Milzbrandbacillen sich bei der Immunisation verändert, wurden folgende Versuche gemacht:

Es wurde eine Kultur genommen, die 8mal durch defibriniertes Kaninchenblut und 8mal durch Kaninchenserum passiert war. Diese Kultur erwies sich, wie Versuch No. 12 zeigt, Alexinen gegenüber ziemlich resistent, doch hatte sie, wie früher mitgeteilt, während der 9-tägigen Aufbewahrung bei Zimmertemperatur ihre Widerstandsfähigkeit verloren. Nachdem sie wieder 4mal durch frisches Kaninchenserum passiert war, fing sie an wieder einen Unterschied im Vergleiche mit der Kontrollkultur zu zeigen, was aus folgender Tabelle zu ersehen ist:

Ergebnis bei Uebertragung	
dieser Serumkultur	einer Kontrollbouillonkultur desselben Alters
in 3 ccm Kaninchenserum	
Aussaat 4	12
5 Std. 59	1
24 Std. 280	3

Da ich nicht genug Zeit zur Verfügung hatte, den Prozeß der Immunisation weiter fortzusetzen, so sollte die Virulenz der eben er-

währten Kultur geprüft werden. Zu diesem Zwecke habe ich vorläufig versucht, die Dosis letalis minima der Kontrollkultur festzustellen. Es erwies sich dabei, daß eintägige Kontrollbouillonkultur in der Menge von 1 ccm der Verdünnung 1:100 in die Ohrvene eingespritzt, ein Kaninchen von 1600 g in 60 Stunden tötet. Bei Einspritzung von 1 ccm der Verdünnung 1:1000 starben die Kaninchen nicht. Auf dieser letzten Verdünnung war ich stehen geblieben:

Versuch No. 1. Es wurde einem Kaninchen von 2672 g 1 ccm der Verdünnung 1:1000 von der eintägigen Serumkultur in die Ohrvene eingeführt. (Durch mehrfaches Schütteln ist die Möglichkeit der Konglomeratbildung ausgeschlossen. Kontrolle mittels Mikroskopes.) 1 ccm dieser verdünnten Kultur ergab auf Platten 2400 Kolonien. Dieselbe Menge derselben Verdünnung der eintägigen Kontrollbouillonkultur wurde einem anderen Kaninchen von 1430 g in die Ohrvene eingespritzt. Beide Tiere sind nicht gestorben.

Versuch No. 2. Dieselbe Serumkultur wurde noch einmal in frischem Kaninchenserum, dann auf Agar umgezüchtet und von der eintägigen Agarkultur eine Emulsion in Kochsalzlösung hergestellt; einem Kaninchen von 2380 g wurde 1 ccm der 0,1-proz. Verdünnung in die Ohrvene eingespritzt. Auf Platten 1 ccm 2520 Kolonien. Dieselbe Menge der Kontrollagaraufschwemmung desselben Alters dem Kaninchen von 1970 g in die Ohrvene eingeführt. Auf Platten 1 ccm 2870 Kolonien.

Beide Kaninchen sind am Leben geblieben.

Das Ergebnis der 2 letzteren Versuche steht also in Widerspruch mit den Resultaten von Shaw, dem es gelungen ist, die Virulenz der Milzbrandbacillen durch Immunisation 4mal größer zu machen. Ob dieses negative Resultat meiner Versuche von der mangelhaften Immunisation oder von Eigentümlichkeiten des benutzten Stammes abhängt, müßten weitergehende Versuche ergeben. Uebrigens darf man nicht vergessen, daß die Empfindlichkeit der Kaninchen gegen Milzbrand sehr verschieden ist; deshalb sind vielleicht meine Versuche für entscheidende Beurteilung nicht zahlreich genug. Daß aber in diesem Prozeß der Immunisation nicht alles immer so einfach ist, sondern noch einige für uns wenig bekannte Faktoren eine bedeutende Rolle spielen können, zeigt die Mitteilung von Danysz: nachdem er gefunden hat, daß das immunisierte erste Milzbrandvaccin nach seinen morphologischen Eigenschaften dem Virus ähnlich ist, schreibt er weiter: „Cette ressemblance est, toutefois, purement morphologique; une culture habituée au sérum du rat est sensiblement moins virulente que la culture d'origine.“

Das Ergebnis meiner Versuche ist also folgendes:

1) Es gelingt, Milzbrandbacillen an die bakterizide Wirkung des Kaninchensersums zu gewöhnen, jedoch nur durch Züchtung in Serum, nicht dagegen in defibriniertem Blute. Dabei ist mikroskopisch keine Veränderung, makroskopisch eine Neigung zur Zusammenballung zu bemerken.

2) Die Eigenschaft der Serumfestigkeit geht durch Aufbewahren im Brutschrank, sowie auch bei Zimmertemperatur sehr leicht verloren; sie kann nicht so leicht wieder hergestellt werden, wie z. B. bei den Typhusbacillen.

3) Eine Steigerung der Virulenz konnte bei den serumfesten Bacillen nicht nachgewiesen werden.

Zum Schluß erlaube ich mir, Herrn Geheimrat Prof. Dr. Gaffky für die Anregung zu dieser Arbeit und die Erlaubnis in seinem Institute arbeiten zu dürfen, meinen ergebensten Dank zu sagen.

Literatur.

- 1) Cohn, Ueber die Immunisierung von Typhusbacillen gegen die bakteriziden Kräfte des Organismus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV. Heft 1. p. 63.)
- 2) Danysz, Immunisation de la bactérie charbonneuse contre l'action du sérum du rat. (Annales de l'Inst. Past. 1900. p. 643—645.)
- 3) Hafkine, Recherches sur l'adaptation au milieu chez les infusoires et les bactéries. (Annales de l'Inst. Past. T. IV. p. 374, 373, 376.)
- 4) Hamburger, Ueber spezifische Virulenzsteigerung in vitro. (Wiener klinische Wochenschr. 1903. No. 4. p. 97—98.)
- 5) Issaëff, Contribution à l'étude de l'immunité acquise contre le pneumocoque. (Annales de l'Inst. Past. T. VII.)
- 6) Laubenheimer, Experimentelle Beiträge zur Veränderlichkeit der Agglutination bei Typhus. Inaug.-Diss. Gießen, 1903.
- 7) Sawtschenko, Contribution à l'étude de l'immunité. (Annales de l'Inst. Past. 1897. p. 866—871.)
- 8) Shaw, On exaltation of bacterial virulence by passage in vitro. (Brit. med. journ. 1903. May 9.)
- 9) Székely, Untersuchungen über die sogenannte bakterizide Wirkung des Blutes. (Ref. Baumgartens Jahresber. Bd. XII. 1896. p. 744.)

*Nachdruck verboten.***Beiträge zur Hämolyse.**

[Aus dem Laboratorium der medizinischen Klinik zu Würzburg.
Direktor: Geheimrat Professor Dr. von Leube.]

Von Dr. med. H. Lüdke.

(Schluß.)

Es gelang also hier nicht vollständig, eine gänzliche Ablenkung der Komplemente durch die Antikomplemente zu erzielen. Bei dieser partiellen Ablenkung der Komplemente vermochte eine gewisse Menge von freiem, hinzugefügten Komplement (welches nicht an die Antikomplemente verankert war) sich mit dem Ambozeptor zu verbinden und so, wenn auch relativ spät, Lösung zu erzielen. Dem entsprach auch der Anfangsbefund, daß dies Kaninchenserum nach 16 stündigem Stehenlassen eine unvollständige Lösung der Ochsenblutkörperchen noch herbeiführen konnte, was für ein nur partielles Vorherrschen der Antikomplemente sprach. — Analog dieser Ueberlegung mußte auch ein solches, Autoantikomplement enthaltendes Serum im stande sein, die Lösung eines normal hämolytischen Serums aufzuhalten, resp. zu verzögern. Ehrlich und Morgenroth geben in ihrem Präzedenzfall diese Tatsache zu. Auch mir gelang dieser Versuch entsprechend.

Lösendes Kaninchenserum inaktiv	Meerschweinchen-serum	Autoantikomplemente enthaltendes Kaninchenserum inaktiv	Lösungsverhältnisse
4 Tropfen	3 Tropfen	—	In 10 Min. vollst. Lösung
1 "	3 "	2 Tropfen	In 2 Std. Spur von "
4 "	3 "	4 "	In 2 " geringe "
4 "	3 "	6 "	In 2 " Spur von "

Also war das Autoantikomplemente enthaltende Serum im stande, wenn in genügender Quantität zugefügt, die Hämolyse durch prompt lösendes Kaninchenserum zu hindern.

In 8 von 12 Fällen trat also dies Phänomen der Auto-Antikomplementbildung auf; in der Mehrzahl der von mir beobachteten Untersuchungen war jedoch das Hervortreten dieser Auto-Antikomplemente weniger deutlich markiert, und es ergab sich nur eine beschränkte oder langsamere Lösung der zur Vorbehandlung verwandten Blutkörperchen, je nachdem Antikomplemente in größerer Menge abgestoßen waren. Es ist denkbar, daß in manchen Fällen allerdings der Komplementgehalt des Serums nur gering ist und so der Antikomplementwirkung freier Spielraum gelassen wird. Außerdem könnte durch den tiefgreifenden Einfluß in das Blutleben bei der Injektion fremden Blutes in den ersten Tagen, in denen sich die neue Erscheinung, das Auftreten der Hämolsine, noch vorbereitet, die Beschaffung des Komplements zu gering, resp. das Leistungsvermögen der Komplementbildner gehemmt sein, so daß die vorhandenen Komplemente zu schwach sind und noch eine erfolgte Produktion von Autoantikomplementen einwirken kann. In unseren Fällen war es aber immer das mitinjizierte fremde Serum, das die Bildung von Autoantikomplementen verursachte; denn in den Fällen, in denen das anhaftende Serum von den Blutkörperchen durch sorgfältiges Waschen genommen war, trat diese Erscheinung gar nicht oder nur undeutlich zu Tage. Jedenfalls ergibt sich also die praktische Regel, vor den Injektionen einer fremden Blutart die Blutkörperchen sorgfältigst vom anhaftenden Serum zu befreien.

II. Untersuchungen über die Regenerationsfähigkeit der Hämolsine nach Blutverlusten.

Die natürliche Resistenz erfährt, wie bekannt, durch Eingriffe verschiedenster Art, so auch nach größeren Blutverlusten, eine erhebliche Abnahme ihrer Wirkungskraft. Durch den plötzlich einwirkenden Blutverlust, die danach gesteigerten Anforderungen an die Blutbildungsstätten und die daraus resultierende Schwächung und herabgesetzte Ernährung der Zellen, welche die Alexine zu sezernieren im stande sind, wird eine solche Resistenzverminderung erklärlich. Im Gegensatz hierzu war schon die Annahme möglich, daß die künstlich erzeugten, in viel größerer Menge vorhandenen Antikörper vielleicht größere Blutentziehungen leichter ertragen. Roux und Vaillard (5) konnten den Nachweis bringen, daß bei einem Pferd, dem sein gesamtes Antitoxine enthaltendes Blut in Intervallen entzogen war, in dem neugebildeten Blut diese Antikörper wieder enthalten waren.

Die Regenerationsfähigkeit der Präzipitine nach Blutverlusten wurde von Rostoski (6) einer genauen Untersuchung unterworfen. Bei 4 Kaninchen von mittlerem Gewicht, denen Pseudoglobulin, wie krystallisiertes Albumin injiziert waren, wurde bis zum Beginn der ersten Erstickungskrämpfe Blut entnommen. Von 3 überlebenden Kaninchen wurde am 9. Tage nach dem Aderlaß und noch einige Tage später die präzipitierende Kraft des Blutserums geprüft. Dabei stellte sich heraus, daß 9 Tage nach der Blutentziehung die präzipitierende Kraft um weit über die Hälfte abgenommen hatte und in den nächsten Wochen ein Anstieg der Präzipitine nicht erfolgte. Daraus zieht Rostoski den Schluß, daß die Präzipitine nach großen Blutverlusten nicht wieder ersetzt werden.

In gutem Einklang mit diesem Befund stehen die Untersuchungen Rostoskis, welche ein allmähliches Verschwinden der Präzipitine aus dem Serum des immunisierten Tieres, das man von Woche zu Woche

konstatieren kann, erkennen lassen. Dem entspricht ja auch die Tatsache, daß die Antitoxinmenge sehr oft in kurzer Zeit schwankt und spontan verschwinden kann. Auch Immunkörper können spontan aus dem Serum verschwinden, ohne daß damit jedoch die Immunität aufgehoben wäre. Speziell die Präzipitine betreffend, lehrten die interessanten Untersuchungen v. Dungerns, daß die mit Majaplasma vorbehandelten Kaninchen spezifische Veränderungen an den Zellen aufweisen, die nach dem Verschwinden der Antikörper aus dem Blut bestehen bleiben können. Das Zellprotoplasma hat gewissermaßen eine bestimmte Direktive bekommen, die es befähigt, bei neuerlichen Injektionen der fremden Substanz durch rascheste Produktion spezifischer Ambozeptoren bindend zu wirken. Wenn für den direkten Nachweis also auch die Präzipitine aus dem Serum verschwinden, sei es mit der Zeit oder nach Blutentziehungen, die Funktion der Zellen, auf spezifische Rezeptoren eingestellt zu sein, bleibt erhalten.

Bezüglich der Regenerationsfähigkeit der Hämolysine, mit der sich meine Versuche befassen, lagen nach der mir zugängigen Literatur noch keine Beobachtungen vor. In Kürze ausgeführt, verliefen die Versuche folgendermaßen:

Experiment I.

Einem kräftigen Kaninchen von 2825 g Gewicht, dem 15 ccm steril aufgefangenen Ochsenblutes subkutan injiziert waren und dessen Serum bei 3 Tropfen Zusatz eine 4-proz. Aufschwemmung von 1 ccm Ochsenblutkörperchen in 10 Min. bei 37° C prompt zur Lösung brachte, wurden zuerst 60 ccm Blut aus der Carotis entzogen, nach 3 Tagen wieder 25 ccm aus den Ohrgefäßen. 3 Tage danach wurde das Serum auf seinen Hämolysingehalt untersucht: Es trat bei 3 Tropfen Serumzusatz zu 1 ccm einer 4-proz. Ochsenblutaufschwemmung in $\frac{1}{2}$ Std. vollständige Lösung ein, am nächstfolgenden Tage schon nach $\frac{1}{4}$ Std. 4 Tage nach dem letzten Aderlaß wurden dem Tier wieder 40 ccm aus der Carotis entnommen; so daß im ganzen in einem Zwischenraum von 7 Tagen dem Kaninchen 125 ccm Blut, d. i. $\frac{1}{24}$ seines Körpergewichts, entnommen waren. Auch wenige Tage nach dem Aderlaß war die Lösungskraft des Serums die gleiche geblieben wie vorher. Demnach waren die Hämolysine im Serum erhalten geblieben, und höchstens eine sehr geringfügige, zeitliche Verzögerung der Lösungskraft eingetreten.

Experiment II.

In einem weiteren Versuche wurden einem mittelgroßen Kaninchen von 2535 g Gewicht, 40 ccm Blut aus der linken Carotis entzogen. Vor dem Aderlaß löste das Serum dieses Tieres innerhalb $\frac{1}{4}$ Std. 1 ccm einer 5-proz. Ochsenblutaufschwemmung vollständig auf. Noch am Nachmittag desselben Tages — 5 Stunden später — wurde eine Probeblutentnahme aus dem Ohr gemacht. Dies Serum löste innerhalb 2-stünd. Beobachtungsdauer bei 3 und 6 Tropfen Zusatz die Ochsenblutaufschwemmung nicht auf. Nach 16-stündigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur war lediglich eine ganz geringe Lösung zu bemerken. 6 Tage später wurden demselben Tier 50 ccm Blut aus der Arter. femoral. dextra entnommen. 5 Stunden später untersucht, trat bei Zusatz von 3 Tropfen Serum in $\frac{1}{4}$ Std. vollständige Lösung ein. 8 Tage nach der ersten Blutentnahme wurden noch 40 ccm Blut dem Tier aus der Carotis dextra genommen. Danach war das Kaninchen sehr elend, schien ad exitum zu kommen, erholte sich jedoch am Nachmittag wieder. Am

folgenden und nächstfolgenden Tag trat Lösung sogar schon bei Zusatz von 3 Tropfen Serum innerhalb 5 Min. ein.

Demnach war nach diesen starken Aderlässen im allgemeinen keine Abnahme oder gar ein Verschwinden des Gehalts an Hämolsinen im Blutstrom der immunisierten Tiere zu konstatieren, auch, in späteren Wochen untersucht, war der Gehalt derselben geblieben. Am besten erläutert das der letzte Versuch, in dem einem Kaninchen ungefähr das gesamte Hämolsine enthaltende Blut entzogen war. Einmal wurde allerdings in kürzester Frist (5 Std.) nach der Blutentnahme ein Fehlen der Hämolsine im Serum vorgefunden, vermutlich waren die die spezifischen Rezeptoren abstoßenden Zellen noch zu geschwächt. Jedenfalls war gewöhnlich innerhalb von 1–2 Tagen bereits eine im wesentlichen gleiche Hämolsinmenge im Serum anzutreffen, während beispielsweise der Hämoglobingehalt des Blutes nach einem stärkeren Aderlaß in etwa 8 Tagen regeneriert ist¹⁾. Die die Abstoßung der hämolytischen Ambozeptoren besorgenden spezifischen Zellen hatten also ihre Bildungsfähigkeit völlig bewahrt.

III. Vererbbarkeit der Hämolsine und über den Komplementgehalt junger Tiere.

Ueber die Vererbbarkeit der Antikörper sind bereits eingehendere Untersuchungen verschiedener Autoren publiziert. Einerseits suchte man den intrauterinen Uebergang der Antikörper durch einfache vergleichende Untersuchungen des Serums von Eltern und Kindern festzustellen, andererseits gelang es auch bei den von Ehrlich zuerst angewandten Vertauschungs- und Ammenversuche durch Säugung fremder Jungen von einem immunisierten Muttertier die Uebertragbarkeit der Antistoffe zu demonstrieren. Immerhin sind jedoch einige Unterschiede bei den verschiedenen Antikörpergruppen hierbei konstatiert worden. Der Uebergang der Immunität gegen Ricin und Abrin sowie gegen Tetanustoxin wurde von Ehrlich (7) und Ehrlich und Hübner beobachtet. Die vererbte Diphtherieimmunität ist nach den Untersuchungen Wernickes (8) und Dzierzgowskis (9) als eine bloße passive intrauterine Uebertragung anzusehen, aber auch durch Säugung erfolgt ein Uebertreten der Schutzstoffe ins kindliche Blutserum. Die Präzipitine werden nach den von Mertens (10), Moro (11) und Merkel (12) vorgenommenen Untersuchungen auf die Jungen übertragen; Ammenversuche wurden bisher nicht angestellt. Die Hämagglutinine dagegen werden nach Krauss (13) nicht auf die jungen Tiere übertragen, während sie in die Milch sezerniert wurden. Die Bakterienagglutinine sind nach den Arbeiten von Lagriffoul und Pagès (14) und nach Jurewitsch (15) auf die Kinder vererbbar. Klinische Fälle der Vererbung der Agglutinine existieren bereits in recht stattlicher Zahl. Ueber den Uebergang der Typhusagglutinine von der Mutter auf die Descendenten stellte Stäubli (16) in jüngster Zeit einige interessante Untersuchungen an; als Hauptmodus der Uebertragung dieser Agglutinine sieht er den rein passiven Uebergang der Agglutinine durch die Placenta an. Weiter konnte Rosenberger (17) konstatieren, daß die Agglutinine, welche durch die säurefesten Bacillen bei den Eltern (Kaninchen) erzeugt sind, auf die Nachkommenschaft übergehen. Die Hämolsine endlich werden nach Krauss nicht durch die Milch und den

¹⁾ Ich verdanke diese Bemerkung einer liebenswürdigen Mitteilung des Herrn Doz. Dr. Rostokis.

Harn ausgeschieden, wohl aber intrauterin auf den Fötus übertragen. Auch der umgekehrte Vorgang, daß die Hämolyse, die durch Zuführung von spezifischem Blut in die Föten entstanden sind, auf das Muttertier übergehen können, ist von Kreidl und Mandl (18) beobachtet worden. Damit ist auch die interessante Tatsache gegeben, daß in den allerfrühesten Entwicklungsstadien der Organismus die Fähigkeit besitzt, Schutzstoffe zu produzieren. Eigene Untersuchungen erstreckten sich auf die Vererbbarkeit der Hämolyse. Einem mittelkräftigen, weiblichen Kaninchen wurden 20 ccm defibrinierten Ochsenbluts intraperitoneal injiziert. Kurz darauf wurde das Tier belegt und warf nach ungefähr 5 Wochen 4 Junge. Eines der jungen Tiere wurde ca. 36 Stunden nach der Geburt durch Öffnen der Carotis getötet und das Blutserum auf seine hämolytische Fähigkeit geprüft. Hierbei stellte sich heraus, daß die Hämolyse vom immunisierten Muttertier auf die Jungen übertragen waren.

I. Mütterliches Serum		II. Kindliches Serum a		III. Kindliches Serum b	
Menge	Lösung trat ein in:	Menge	Lösung trat ein in:	Menge	Lösung trat ein in:
0,5 ccm	10 Minuten	0,8 ccm	20 Minuten	0,8 ccm	20 Minuten
0,3 "	10 "	0,5 "	30 "	0,5 "	20 "
0,1 "	20 "	0,2 "	55 "	0,2 "	1 Std. 10 Min.
0,05 "	35 "	0,05 "	Spur	0,05 "	keine Lös. in 2 Std.
0,03 "	40 "	0,03 "	keine Lös. in 2 Std.	0,03 "	" " " 2 "
0,01 "	1 Std. 20 Min.	0,01 "	" " " 2 "	0,01 "	" " " 2 "

Dem 2. Jungen (kindliches Serum b) wurde 3 Tage nach der Geburt, wo aller Wahrscheinlichkeit nach schon Säugung stattgefunden hatte, durch die jedoch nach den Untersuchungen Krauss' keine Uebertragung der Hämolyse statthabte, Blut aus der Carotis entzogen. Auffallend ist hier bei diesen beiden zur Untersuchung gelangten kindlichen Blutsera, daß der Uebergang der Hämolyse bei dem zweiten Jungen nicht in ganz derselben Stärke ausgeprägt war wie bei dem erst untersuchten. Jedenfalls ist der Uebertritt der Hämolyse auf die Jungen, wie schon Krauss bei Ziegen fand, hier wieder bestätigt. Allerdings tritt die Lösung nicht in der gleichen Schnelligkeit und Stärke ein, wie dies bei dem alten Tier der Fall ist. Es scheint mir dies ein Ausdruck der rein passiven Uebertragung der Hämolyse auf die Nachkommenschaft zu sein, indem gewissermaßen den Hämolyse produzierenden Zellen nur ein Zeichen aufgeprägt ist, das sich in der nächsten Zeit wieder verliert. Leider war es mir, da die beiden andern Jungen eingingen, nicht möglich, das Verschwinden der Hämolyse aus dem Blut der jungen Tiere, das wohl analog den Befunden bei den anderen bekannten Antikörpern angenommen werden muß, eingehender zu studieren.

Indem so die Vererbbarkeit fast sämtlicher bekannten Antikörper erwiesen war, befaßten sich andere damit, die Differenzen im Gehalt an denselben im Serum des Muttertieres und dem der Jungen, sei es nun bei normalen oder immunisierten Tieren, festzustellen. Auch hier existiert eine größere Reihe von einschlägigen Arbeiten, die sich allerdings meist auf das hämolytische und agglutinierende Element im Blute beziehen. Für die Agglutinine im Serum des choleraimmunisierten Meerschweinchens fand Dieudonné (19), daß nach $1\frac{1}{2}$ —2 Monaten die Agglutinationsfähigkeit aus dem Blutserum der jungen Tiere völlig verschwindet. Eine Vererbung auf die Enkelgeneration findet nicht statt. Ebenso sah

Jurewitsch die Agglutinine bei *Bact. typhi* rasch aus dem Meer-schweinchenblut verschwinden. Dies baldige Verschwinden der Schutzstoffe aus dem Blut der jungen Tiere kann meines Erachtens nur einer gewissen geringeren Intensität der spezifischen Funktion der Zellen bei der bloßen passiven Uebertragung der Immunstoffe von Mutter auf Kind entsprechen, indem etwa eine lockerere Haftung der spezifischen Rezeptoren an das immunisierte Protoplasmamolekül stattfindet, die sich infolge des Eingreifens anderer, einen stärkeren und nachhaltigeren Reiz ausübender Prozesse an der Zelle in der Zeit des frühesten extrauterinen Daseins rasch verliert. Jedoch ist indirekt diesen Individuen wohl ein größerer Schutz gegeben; denn die Direktive des Protoplasmas, auf den gleichen Reiz prompter zu antworten, ist wahrscheinlich für viel längere Zeit hier bewahrt geblieben als bei Tieren, denen keine Immun-körper vererbt wurden.

Daß sich aber weiterhin Antikörper — naturgemäß in geringerer Quantität — bei nichtimmunisierten Tieren auch im späteren Leben selbständig bilden können, lehrten die folgenden Untersuchungen: G. Müller (20) fand, daß einzelne Bakterienagglutinine noch gar nicht oder nur in verschwindend geringer Menge gegenüber dem Gehalt im Serum erwachsener Tiere im Blute von Kälbern vorhanden sind. Ich konnte diese Angabe Müllers in vollstem Umfange bestätigen. Bei 3 Kälbern (im Alter von 2—4 $\frac{1}{2}$ Wochen) war die Agglutinationsfähigkeit auf *Bact. typhi* nur sehr gering ausgesprochen, — 2 agglutinierten nur bei einer Verdünnung von 1:1, eins noch bei 1:10 *Bact. typhi* — während 8 Ochsen ein Blutserum darboten, das im Durchschnitt noch bei einer Verdünnung von 1:50 *Bact. typhi* sehr gut zur Agglutination brachte.

Von den weiteren Arbeiten über die Differenzen im Gehalt an Schutzstoffen des Blutes ausgewachsener und junger Tiere will ich nur die Untersuchungen von Halban und Landsteiner (19) anführen. In der Regel fanden diese Autoren beträchtliche Differenzen in der Wirkung mütterlichen und kindlichen Blutes (Mensch), und zwar beim mütterlichen Serum meist höhere hämolytische, agglutinierende, präzipitierende Fähigkeit als beim kindlichen Serum; auch die antitoxische und anti-fermentative Wirkungskraft des mütterlichen Blutes überwog die des kindlichen deutlich. Aehnliche Ergebnisse finden sich — mit besonderer Berücksichtigung der hämolytischen und agglutinierenden Fähigkeit des Serums — in den Untersuchungen von Resinelli (20), Schuhmacher (21), Langer (22) und Halban (23). Auch Sachs konstatierte ein vollständiges oder fast vollständiges Fehlen der normalen Hämolyse im Serum von Föten oder Neugeborenen im Gegensatz zu dem Vorhandensein derselben im Serum Erwachsener.

Es lag nun schon von vorneherein die Annahme nahe, dieses Fehlen der lösenden Substanzen auf einen Mangel an spezifischen Ambozeptoren im Blut der Neugeborenen zurückzuführen. Halban und Landsteiner, wie Sachs (24) konnten auch in der Tat einen Mangel an Ambozeptor nachweisen, obgleich nach Sachs auch ein Komplementmangel nicht vollständig auszuschließen war. Eine Ergänzung dieser Angaben von Sachs schienen mir Untersuchungen über den Komplementgehalt junger und ausgewachsener Kaninchen zu bieten.

Von einer Kaninchenfamilie wurden Mutter wie der Nachwuchs zu 3 verschiedenen Zeiten bezüglich des Komplementgehalts ihres Serums

geprüft. Als hämolytisches Serum wurde ein von einem immunisierten Kaninchen stammendes Blutserum in immer gleicher Quantität (0,3 ccm) inaktiviert verwandt. Folgende Ergebnisse wurden hierbei erhalten:

Mutter			Kind I. 3 Tage nach der Geburt		
Aktives, normales Serum	Inaktiviertes hämolytisches Serum	Lösung trat ein in:	Aktives, normales Serum	Inaktiviertes hämolytisches Serum	Lösung trat ein in:
0,3 ccm	0,3 ccm	30 Minuten	0,3 ccm	0,3 ccm	30 Minuten
0,1 "	0,3 "	30 "	0,1 "	0,3 "	50 "
0,08 "	0,3 "	30 "	0,08 "	0,3 "	50 "
0,05 "	0,3 "	50 "	0,05 "	0,3 "	1 Std. 30" Min.
0,03 "	0,3 "	60 "	0,03 "	0,3 "	2 Std. Spur
0,02 "	0,3 "	2 Std. Spur	0,02 "	0,3 "	2 Std. keine Lös.

Kind II. 3 Tage nach der Geburt			Kind III. 15 Tage nach der Geburt		
0,1 ccm	0,3 ccm	50 Minuten	0,2 ccm	0,3 ccm	45 Minuten
0,08 "	0,3 "	50 "	0,1 "	0,3 "	1 Std.
0,05 "	0,3 "	1 Std. 30" Min.	0,05 "	0,3 "	1 Std. 10 Min.
0,03 "	0,3 "	2 Std. keine Lös.	0,03 "	0,3 "	1 " 25 "
0,02 "	0,3 "	2 " " "			

Kind IV. 33 Tage nach der Geburt		
Aktives, normales Serum	Inaktives, hämolytisches Serum	Lösung trat ein in:
0,3 ccm	0,3 ccm	25 Minuten
0,1 "	0,3 "	30 "
0,05 "	0,3 "	60 "
0,03 "	0,3 "	60 "
0,02 "	0,3 "	Spuren

Bei einer zweiten Kaninchenfamilie wurden an Mutter wie 2 vier-tägigen Jungen die gleichen Untersuchungen angestellt, deren Ergebnis sich mit geringsten Differenzen ähnlich gestaltete, so daß eine Anführung der einzelnen Resultate der Untersuchungen unterbleiben kann.

Im allgemeinen ist nun bei ausgewachsenen Kaninchen der Komplementgehalt, wie v. Dungern hervorhebt, ziemlich konstant und bei verschiedenen Tieren erheblichen Schwankungen nicht unterworfen. Ganz geringe Differenzen im Komplementgehalt bei meinem Muttertier waren allerdings zu konstatieren, indem die Lösung des Ochsenbluts am 15. und 33. Tage nach erfolgter Geburt im Durchschnitt um 5—10 Min. bei Zusatz des mütterlichen Serums später erfolgte als beim Zusatz am 4. Tage nach der Geburt; jedenfalls also nur geringste Differenzen. Die Konstante des Komplementgehalts scheint sich nun schon relativ früh, in den ersten Wochen des extrauterinen Lebens heranzubilden. Aus diesen Untersuchungen geht wenigstens hervor, daß gemäß der Zeit, in der die Versuche angestellt wurden, eine gewisse Differenz zwischen den einzelnen Komplementgehalten bestand und zwar beruhte dieser Unterschied auf einer Steigerung des Gehalts an Komplement mit dem Alter des Tieres. Nach 4—5 Wochen war kaum noch eine Differenz im Gehalt des mütterlichen und kindlichen Serums zu konstatieren. 15 Tage nach der Geburt war der Unterschied, der nur bei kleineren Mengen zugesetzten Serums deutlicher in Erscheinung trat, noch ausgesprochen, indem z. B. 0,03 ccm Zusatz von mütterlichem Serum in 60 Min. voll-

ständige Lösung herbeiführte, bei kindlichem Serumzusatz in 1 Std 25 Min. Beobachtungszeit sich erst Lösung zeigte. Bei Zusatz von Serum viertägiger Jungen war die Lösungskraft noch mehr herabgesetzt, indem kindliches Serum zu 0,03 ccm zugesetzt innerhalb 2 Std. nur eine Spur von Lösung hervorbrachte, die auch nach 16-stünd. Stehen bei Zimmertemperatur keine Fortschritte machte. Daß beide Jungen, die gleichzeitig (am 4. Tage) untersucht wurden, diese Erscheinung zeigten, dient umso mehr zum Beweis, daß kindliches Serum in den ersten Tagen des extrauterinen Lebens einen verhältnismäßig geringeren Vorrat an Komplement besitzt.

Herrn Geheimrat Professor Dr. von Leube spreche ich für die gütigst erteilte Erlaubnis, vorliegendes Thema im Laboratorium der mediz. Klinik zu Würzburg bearbeiten zu dürfen, meinen ergebenen Dank aus. Herrn Privatdozent Dr. Rostoski bin ich für seine Anregung und für sein dauerndes, großes Interesse zu größtem Danke verpflichtet.

Ein kleinerer Teil der Arbeit wurde in der bakteriol. Untersuchungsstation der Stadt Barmen angefertigt; für die Ueberlassung der Hilfsmittel dieses Instituts danke ich an dieser Stelle ergebenst dem Leiter desselben, Herrn Prosektor Dr. Marckwald.

Literatur.

- 1) Sachs, Ueber die Vorgänge im Organismus bei der Transfusion fremdartigen Blutes. (Arch. f. Anatomie u. Physiologie. 1903.)
- 2) Bulloch, On the nature of haemolysin and its relation to bacteriolysis. (Transactions of the Pathological Society of London. Vol. LII. 1901.)
- 3) Ehrlich und Morgenroth, Ueber Hämolsine. V. Mitteilung. (Berliner klin. Wochenschr. 1901. No. 10.)
- 4) von Dungern, Die Antikörper. Jena (G. Fischer) 1903.
- 5) Roux et Vaillard, Contribution à l'étude du tétanos. (Annales de l'Institut Pasteur. 1893.)
- 6) Rostoski, Zur Kenntnis der Präzipitine. (Habilitationsschrift.) Würzburg (Stuber) 1902.
- 7) Ehrlich, P., Ueber Immunität durch Vererbung und Säugung. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XII. 1892.)
- 8) Wernicke, Ueber die Vererbung der künstlich erzeugten Diphtherieimmunität bei Meerschweinchen. (Festschrift zur 100jähr. Stiftungsfeier des Friedrich-Wilhelm-Instituts. 1895. Ref. Baumgartens Jahresbericht. Jahrg. 11.)
- 9) Dzierzowski, Ein Beitrag zur Frage der Vererbung der künstlichen Diphtherieimmunität. (Centralbl. f. allgem. Pathologie u. path. Anatomie. Bd. XII. 1901.)
- 10) Mertens, Deutsche med. Wochenschr. 1901. Nr. 11.
- 11) Moro, Wiener klin. Wochenschr. 1901. No. 44.
- 12) Merkel, Ueber die Vererbung der Präzipitinreaktion. (Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 8.)
- 13) Krauss, Ueber das Vorkommen der Immunhämagglutinine und der Immunhämolsine in der Milch. (Wiener klin. Wochenschr. 1901. No. 31.)
- 14) Lagriffoul et Pagès, Sur le passage de l'agglutinine de la mère au foetus dans les cas de tuberculose maternelle. (Soc. Biol. 55, 1115 [31. VII. 1903].)
- 15) Jurewitsch, Ueber den vererbten und intrauterinen Uebergang der agglutinierenden Eigenschaften des Bluts und die Bildung der Agglutinine im Körper der Embryonen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXIII. No. 1.)
- 16) Stäubli, Ueber der Bildung der Typhusagglutinine und den Uebergang von der Mutter auf die Descendenten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXVI. 1904. No. 2/3.)
- 17) Rosenberger, Ueber Agglutination säurefester Bacillen. (Centralbl. f. innere Medizin. 1904. No. 26.)
- 18) Kreidl und Mandl, Ueber den Uebergang der Immunhämolsine von der Frucht auf die Mutter. (Wiener klin. Wochenschr. 1904. No. 22.)
- 19) Dieudonné, Ueber die Vererbbarkeit der Agglutinine bei choleraimmunisierten Meerschweinchen. (Festschrift zum 50jähr. Jubil. der phys.-med. Gesellschaft zu Würzburg. 1899.)

- 20) Müller, G., Ueber Agglutinine normaler Tiersera. (L.-D.) Bern 1901.
- 21) Halban und Landsteiner, Ueber Unterschiede des fötalen und mütterlichen Bluts und über eine agglutinations- und fällungshemmende Wirkung des Normalserums. (Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 12.)
- 22) Resinelli, G., Ferrara 1901. Zitiert nach Sachs: Ueber Differenzen der Blutbeschaffenheit in verschiedenen Lebensaltern. (Centralbl. f. Bakt. 1903. No. 7.)
- 23) Schuhmacher, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVII. 1901.
- 24) Langer, Zeitschr. f. Heilk. 1903. Heft 5.
- 25) Halban, Wiener klin. Wochenschr. 1900. No. 24.
- 26) Sachs, Ueber Differenzen der Blutbeschaffenheit in verschiedenen Lebensaltern. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1903. No. 7.)

Nachdruck verboten.

Ueber den Mechanismus der Bakterienagglutination durch Gelatine.

[Aus dem hygienischen Institut der deutschen Universität in Prag.
(Vorstand: Professor Hueppe).]

Von Dr. Edmund Weil, d. Z. Assistent am patholog.-anatom. Institut.

Diese Untersuchungen bilden die Fortsetzung einer in dieser Zeitschrift erschienenen Publikation „Ueber den Einfluß der Temperatur auf die spezifische und nichtspezifische Agglutination“.

Es wurde dort gezeigt, daß die Gelatine, die bei Bakterien — Typhusbacillen und Choleravibrionen — Agglutination hervorbringt, auf dieselbe Substanz wirkt wie das spezifische Serum. Es soll nun hier des weiteren der Mechanismus der Gelatineagglutination untersucht werden.

Der Bau der Agglutinine ist durch die Arbeiten von Bail, Eisenberg und Volk und Wassermann ganz im Sinne der übrigen Immunkörper nach der Anschauung Ehrlichs erklärt worden. Die Bakterien besitzen den spezifischen Rezeptor, der mit seiner haptophoren Gruppe die haptophore Gruppe des Agglutinins (Agglutinophor Bail) verankert. Damit ist das Agglutinin an die Bakterien gebunden. Damit die sichtbare Agglutination zustande kommt, muß die 2. Gruppe des Agglutinins die fällende (Eisenberg und Volk) oder das Hemiagglutinin (Bail) auf die agglutinierbare Bakteriensubstanz einwirken. Während Ehrlich die Agglutinine als Rezeptoren zweiter Ordnung auffaßt, bei denen bindende und fällende Gruppe untrennbar verbunden sind, gelang es Bail, Hemiagglutinin und Agglutinophor getrennt zu erhalten, und konnte er so den Agglutininen den Bau von Rezeptoren dritter Ordnung zuschreiben, wobei dem Agglutinophor der Charakter eines Ambozeptors zukommt, wie bei den Bakterio- und Hämolytinen.

Es lag nun die Frage nahe, wie sich die agglutinierende Substanz der Gelatine zu den spezifischen Agglutininen in Bezug auf ihre Einwirkung auf die Bakterien verhält. Nachdem die Einwirkung der Gelatine auf die agglutinable Bakteriensubstanz festgestellt war, sollte hier vor allem untersucht werden, ob die Gelatine ebenso wie das spezifische Serum auf die haptophore Gruppe der Bakterien auf ihren spezifischen Rezeptor wirkend, zur agglutinierbaren Substanz gelangt.

Wir besitzen nun ein Mittel, die haptophore Gruppe der Bakterien auszuschalten, und zwar durch Besetzen mit inaktiviertem Serum. Durch Erhitzen des agglutinierenden Serums wird die thermolabile (fällende) Substanz desselben zerstört, die thermostabile (haptophore) bleibt erhalten

oder die Agglutinine werden in Agglutinoide umgewandelt analog den Toxoiden, bei denen die zymotoxische Gruppe unwirksam ist. Diese Agglutinoide besetzen den Rezeptor der Bakterien, sodaß dem aktiven Agglutinin der Weg zur agglutinierbaren Substanz verlegt ist, oder mit anderen Worten, die mit inaktiviertem Serum vollkommen besetzten Bakterien sind für das spezifische aktive Serum inagglutinabel.

Wirkt nun die Gelatine auf die spezifische haptophore Gruppe der Bakterien ein, so wird auch sie außer stande sein, bei Bakterien, die mit Agglutinoiden vollkommen besetzt sind, Agglutination hervorzubringen, wirkt jedoch die nicht spezifische Gelatine auf eine andere Substanz der Bakterien bis auf ihren spezifischen Rezeptor, so wird dieselbe auch auf mit inaktiviertem Serum besetzte Bakterien agglutinierend wirken. Das sollte nun untersucht werden.

Die Bakterien — Typhusbacillen — wurden auf folgende Weise inagglutinabel gemacht. Da sich Bouillonbakterien für die Gelatineagglutination ungleich besser eigneten als Agarbakterien, so wurden jedesmal 10 ccm einer 20-stündigen Bouillonkultur abzentrifugiert und in 2 ccm vollständig inaktiviertem Serum aufgeschwemmt und zwar in der starken Konzentration 1:15, wobei das Serum bis 1:12000 agglutinierte. Um das Serum vollständig zu inaktivieren, mußte dasselbe mindestens eine Stunde auf 75° erwärmt werden; häufig agglutinierte das Serum selbst nach dieser Zeit noch. Es scheint in dieser Hinsicht die Inaktivierungstemperatur der verschiedenen Sera verschieden hoch zu sein. Die in diesem inaktivierten Serum aufgeschwemmten Bakterien wurden dann eine Stunde bei 55° gehalten, hierauf abermals abzentrifugiert, gewaschen und in Bouillon aufgeschwemmt; es ist angezeigt, hierauf noch durch Watte zu filtrieren, damit keine Flöckchen, die nachher auf die Beobachtung der Agglutination störend wirken, zurückgehalten werden. Die so erlangten Bakterien zeigten dann für starke Konzentrationen aktiven Serums eine starke Hemmung und sind für schwächere Konzentration vollständig inagglutinabel.

Zu dieser Aufschwemmung wurde nun Gelatine gegeben und zwar zu 1 ccm derselben $\frac{1}{2}$ ccm 10-proz. Nährgelatine. Die Röhrchen wurden hierauf mit den Kontrollen 2 Stunden im Wasserbade bei 55° belassen. Während in den Kontrollen bereits nach einer Stunde deutliche Agglutination eingetreten war, wiesen die mit inaktiviertem Serum behandelten Bakterien keine Spur von Agglutination auf; dieselbe blieb auch nach 24 Stunden langem Stehen bleiben bei Zimmertemperatur aus.

Man kann sich die Ausführung dieses Versuches vereinfachen, indem man zu 1 ccm Bouillonkultur $\frac{1}{2}$ ccm inaktivierten Serums gibt, einige Zeit beisammen läßt und hierauf $\frac{1}{2}$ ccm Gelatine hinzusetzt. Auch hier bringt die Gelatine keine Agglutination hervor. Die Ausführung dieser Versuche gelingt immer. Der negative Ausfall, d. h. wenn nach Zugabe von Gelatine Agglutination eintritt, ist stets darauf zurückzuführen, daß das Serum nicht vollständig inaktiviert war.

Für die Agglutinationsversuche mit Gelatine ist nur die Temperatur von 55° geeignet, bei welcher nach 2 Stunden in den meisten Fällen deutliche mikroskopisch sichtbare Agglutination eingetreten ist, während nach 2-stündigem Aufenthalte ein Brutschrank bei Typhusbacillen noch keine Agglutination zu beobachten ist und längere Zeit die Bakterien der Bruttemperatur auszusetzen wegen des Weiterwachsens derselben ungeeignet ist.

Aus diesen Versuchen kann wohl mit Sicherheit der Schluß gezogen werden, daß die Gelatine, um die agglutinierbare Bakteriensubstanz zu beeinflussen, auf den spezifischen Rezeptor wirken muß, denn nur so ist es nach der jetzigen Anschauung erklärlich, daß die Wirkung der Gelatine bei Bakterien, deren spezifische haptophore Gruppe durch Besetzen mit inaktiviertem Serum ausgeschaltet ist, versagt. Damit aber die Gelatine auf die haptophore Gruppe der Bakterien einwirkt, muß dieselbe eine Affinität zu derselben besitzen, sie muß selbst über eine Gruppe verfügen, die in die haptophore Gruppe der Bakterien „paßt“. Nun ergibt sich aber insofern eine Schwierigkeit, als die nicht spezifische Gelatine auch auf Cholera-vibrionen agglutinierend wirkt und zwar ebenso wie bei den Typhusbacillen auf deren agglutinierbare Substanz und spezifischen Rezeptor. Die hier mit Typhusbacillen beschriebenen Versuche wurden auch mit Cholera-vibrionen und zwar mit demselben Resultate ausgeführt, eine nähere Schilderung derselben wäre eine einfache Wiederholung des bereits Gesagten.

Es sind nun zwei Möglichkeiten vorhanden. Entweder besitzt die Gelatine verschiedene agglutinierende Substanzen, für Typhusbacillen, Cholera-vibrionen, überhaupt für alle jene Bakterien, die sie agglutiniert, dann müßte man ihr dieselbe Spezifität zuschreiben, wie z. B. einem Serum, das Typhusbacillen und Cholera-vibrionen agglutiniert und getrennte Agglutinine für beide besitzt, oder sie besitzt nur eine agglutinierende Substanz, die allerdings auf die spezifischen Rezeptoren aller von der Gelatine agglutinierten Bakterien „passen“ müßte. Die Absorption der agglutinierenden Substanz der Gelatine mit verschiedenen Bakterien mußte darüber Aufschluß geben. Agglutiniert z. B. die Gelatine, deren agglutinierende Substanz durch Cholera-vibrionen erschöpft ist, Typhusbacillen wie vorher, ist also die Absorption eine spezifische, so müßte die Gelatine für Cholera-vibrionen und Typhusbacillen verschiedene Substanzen besitzen. Ist jedoch die mit Cholera-vibrionen erschöpfte Gelatine unfähig, auch Typhusbacillen zu agglutinieren, so besitzt sie nur eine Substanz, die auf beide wirkt.

Die Versuchsanordnung war folgendermaßen. Es wurden wiederum Bouillonbakterien verwendet und zwar Typhusbacillen und Cholera-vibrionen, welch letztere dadurch, daß sie nicht als Oberflächenhäutchen, sondern die Bouillon gleichmäßig trübend wuchsen, besonders geeignet waren. Die Bakterien wurden jedesmal von 20 ccm einer 20-stündigen Kultur abzentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit vollständig abgegossen und der Bodensatz in 10 ccm 3-proz. Gelatine aufgeschwemmt. Hierauf wurden die Röhrchen 3 Stunden bei 55° und über Nacht im Eisschranke gehalten. Um ein vollständiges Abgießen der überstehenden Flüssigkeit leichter zu erzielen, wurden auch diese Röhrchen, in denen es durch die Agglutination zu Bodensatzbildung gekommen war, abzentrifugiert und die überstehende Flüssigkeit auf frische Bakterien abgegossen. Auf diese Weise konnte eine Verdünnung der Gelatine ausgeschlossen werden. Diese Prozedur wurde so oft wiederholt, bis die Gelatine nicht mehr agglutinierte, bis ihre agglutinierende Substanz erschöpft war.

Es zeigten in dieser Hinsicht die Typhusbacillen und Cholera-vibrionen eine bedeutende Differenz; während die Erschöpfung durch die Cholera-vibrionen ohne bedeutende Schwierigkeiten zu stande kam, ging dieselbe bei den Typhusbacillen bei weitem nicht so glatt.

Die Cholera-vibrionen zeigten nach dreimaliger Wiederholung der

eben geschilderten Prozedur noch vollständige Agglutination, d. h. Bodensatz mit klarer überstehender Flüssigkeit, hierauf Bodensatzbildung mit trüber überstehender Flüssigkeit, bis schließlich überhaupt keine Bodensatzbildung mehr eintrat, so daß durchschnittlich das siebente Mal die agglutinierende Substanz der Gelatine durch die Choleravibrionen verbraucht war.

Bei den Typhusbacillen kam eine vollständige Agglutination kaum das erste Mal zu stande. Die folgenden Male bildete sich Bodensatz und immer trübe überstehende Flüssigkeit. Da die Gelatine nach Abzentrifugieren dieser nicht agglutinierten Bakterien immer noch agglutinierte, so war eine Untersuchung derselben angezeigt. Diese Bakterien in der überstehenden Flüssigkeit mit der Pipette abgehoben, zeigten auch nach Zugabe von frischer Gelatine nur sehr rudimentäre Agglutination. Es hat also den Anschein, als ob nicht alle Typhusbacillen einer Bouillonkultur für die Gelatinagglutination gleich geeignet wären. Damit im Zusammenhang steht vielleicht auch die schwerere Erschöpfbarkeit der Gelatine durch die Typhusbacillen, weil immer nur ein Teil derselben agglutiniert wird. Sehr mühevoll ist auch die Absorption der Agglutinine im spezifischen Serum. So konnte Bail in 2 ccm Typhusserum successive 17 Agarkulturen aufschwemmen, ohne daß ihm die vollkommene Erschöpfung gelungen wäre.

Der Versuch wurde nun fortgesetzt, indem zunächst in der mit Typhusbacillen behandelten Gelatine Typhusbacillen und Choleravibrionen aufgeschwemmt wurden. Während in den entsprechenden Kontrollen nach einer Stunde Agglutination eingetreten war, blieb dieselbe in der mit den Typhusbacillen behandelten Gelatine nach 3-stündigem Verweilen im Wasserbade bei 55° aus, erst nach Stehenbleiben über Nacht traten in beiden Spuren von Agglutination ein, weil die Gelatine nicht vollständig erschöpft war.

Viel deutlicher waren die Resultate bei der durch die Choleravibrionen erschöpften Gelatine. Hier blieb die Agglutination sowohl bei Choleravibrionen als auch bei Typhusbacillen vollständig aus, selbst bei Stehenbleiben über Nacht, während auch hier die Kontrollen nach 1 Stunde Agglutination zeigten. Das agglutinierende Agens der Gelatine war durch die Choleravibrionen vollständig verbraucht. Diese Versuche wurden mehrmals mit demselben Erfolge wiederholt.

Die Deutung dieser Beobachtungen ist klar. Wir ersehen daraus, daß die Absorption der Gelatine keine spezifische ist, wie ja zu erwarten war, sondern, daß die Gelatine nur eine Substanz besitzt, mit der sie auf Typhusbacillen und Choleravibrionen und — es ist wohl der Schluß erlaubt — auf alle Bakterien, bei denen sie Agglutination hervorbringt, agglutinierend wirkt. Doch zeigen die verschiedenen Bakterien, wie schon aus den Typhusbacillen und Choleravibrionen ersichtlich ist, hinsichtlich der Absorption eine Verschiedenheit. Durch die Typhusbacillen kommt die Absorption der Gelatine viel schwieriger zu stande, als durch die Choleravibrionen, die Agglutination geht bei ersteren viel langsamer von statten, was schon daraus hervorgeht, daß die Typhusbacillen nach 2-stündigem Aufenthalt bei 37° nicht agglutiniert werden, während bei den Choleravibrionen nach dieser Zeit Agglutination zu stande kommt. Dies ist auch der Grund, daß die agglutinierende Substanz der Gelatine durch die Choleravibrionen viel rascher und vollkommener aufgebraucht wird, als durch die Typhusbacillen. Es ist wohl möglich, daß die schwere Absorption der Typhusbacillen nur für den hier gebrauchten Stamm

Gültigkeit hat und nicht für andere Stämme; wir wissen ja, wie verschieden sich die verschiedenen Bakterienstämme hinsichtlich ihrer Agglutinierbarkeit verhalten.

Aus der Möglichkeit, die agglutinierende Substanz der Gelatine zu erschöpfen, muß auch angenommen werden, daß dieselbe an die Bakterien gebunden wird. Es müßten dann allerdings die agglutinierten Bakterien, in Kochsalzlösung aufgeschwemmt, wiederagglutiniert werden, was jedoch nicht konstant eintritt. Es kommt zwar manchmal Agglutination zu stande, jedoch nicht in dem Maße, wie das erste Mal. Ein agglutinierendes Typhusserum daraufhin untersucht, zeigte folgendes Verhalten: Das Serum agglutinierte bis 1:6000. Bei den abzentrifugierten gewaschenen in Kochsalzlösung aufgeschwemmten Bakterien trat bis zur Verdünnung 1:1200 vollständige Reagglutination ein, 1:2500 wurde nur unvollständig agglutiniert, von der Verdünnung 1:5000 an blieb die Wiederagglutination aus. Man weiß auch aus Erfahrung, daß die zerschüttelten agglutinierten Bakterienhäufchen in schwachen Serumkonzentrationen sich ungleich schwerer wieder bilden, als das erste Mal. Es kann eben die Gelatine in ihrer agglutinierenden Kraft nur den schwachen Serumkonzentrationen an die Seite gestellt werden.

Die mit Gelatine besetzten Bakterien für die nachfolgende Zugabe aktiven Serums inagglutinabel zu machen, scheiterte daran, daß es nicht gelang, die Gelatine durch Hitze unwirksam zu machen. Die 30 Stunden der Temperatur des strömenden Dampfes ausgesetzte Gelatine, die ihre Erstarrungsfähigkeit vollständig verloren hatte, hatte ihre agglutinierende Eigenschaft nicht eingebüßt.

Wenn die Annahme, daß das agglutinierende Agens der Gelatine auf dieselben Bakteriensubstanzen einwirkt wie das spezifische Serum, richtig ist, so war noch von Interesse, das Zusammenwirken von agglutinierendem Serum und Gelatine zu untersuchen. Wie aus dem eben erwähnten Versuche hervorgeht, reicht die von den Typhusbacillen absorbierte Gelatine nicht mehr aus, in der Kochsalzaufschwemmung Agglutination hervorzubringen, ebenso wie die schwachen Konzentrationen des spezifischen Serums. Ist die agglutinierende Substanz der Gelatine aber dennoch an die Bakterien gebunden, so muß sich die Wirkung derselben mit der Wirkung des spezifischen Serums summieren.

Es wurden hierzu Typhusbacillen verwendet und zwar die übliche Mischung 1 ccm Bouillonkultur und $\frac{1}{2}$ ccm Gelatine. Nachdem die Agglutination eingetreten, wurden die agglutinierten Bakterien abzentrifugiert und dieselben erstens in der Serumverdünnung 1:5000 aufgeschwemmt, wobei das Serum 1:6000 agglutinierte; zweitens wurden diese Bakterien in Kochsalzlösung und drittens gewöhnliche Typhusbacillen, die, um sie den gleichen Bedingungen, wie die mit Gelatine beladenen auszusetzen, eben dieselbe Zeit bei 55° gehalten wurden, in der Serumverdünnung 1:5000 aufgeschwemmt. Da zeigte sich, daß die mit Gelatine beladenen Bakterien viel rascher agglutiniert wurden, als die gewöhnlichen Typhusbacillen, und zwar in dem Maße, daß bei ersteren schon Agglutination eingetreten war, während bei letzteren noch nichts zu sehen war. In den in Kochsalzlösung aufgeschwemmten mit Gelatine beladenen Bakterien kam überhaupt keine Agglutination zu stande. Bei diesem Versuche ist es angezeigt, schwache Serumkonzentrationen zu wählen, weil da selbstverständlich die Differenzen viel schärfer zu Tage treten.

Noch mehr Beweiskraft mußte diesem Versuche zukommen, wenn

man die Agglutinationsgrenze des Serums überschritt, wenn dasselbe nicht ausreichte, sichtbare Agglutination hervorbringen. Der Versuch wurde genau wie der eben beschriebene angestellt, nur die Serumverdünnung 1:7500 gewählt, bei welcher keine Agglutination mehr zu stande kam. Die beifolgende Tabelle zeigt die Anordnung dieses Versuches.

2 Std. zwischen 50° und 55°	
Mit Gelatine beladene Typhusbacillen in NaCl aufgeschwemmt	keine Agglutination.
Mit Gelatine beladene Typhusbacillen mit der Serumverdünnung 1:7500 auf- geschwemmt	Agglutination.
Gewöhnliche, in Bouillon gewachsene Typhusbacillen in der Serumverdün- nung 1:7500 aufgeschwemmt	keine Agglutination.

Während also die Serumverdünnung 1:7500 einerseits, die von den Typhusbacillen absorbierte Gelatine andererseits nicht mehr ausreichten, die Bakterien zu agglutinieren, tritt durch das Zusammenwirken beider Agglutination ein. Dieser Versuch kann kaum anders gedeutet werden, als daß sich die Wirkung der Gelatine mit der der spezifischen Agglutinine summiert.

Dieses Ergebnis ist vollständig in Analogie zu bringen mit Versuchsergebnissen von Marx, bei denen er fand, daß Mäuse, welche nur Tetanusgift und Gehirn erhielten, zu Grunde gingen, während durch Antitoxinzusätze, die als solche nicht zur Neutralisierung der Giftdose ausreichten, Tiere mit diesen Gehirndosen gerettet wurden. Es summierten sich also Gehirndosen, die als solche nicht schützten, mit nicht schützenden Antitoxindosen zu schützenden Dosen. „Man ist berechtigt, sagt er, hieraus den Schluß zu ziehen, daß die Tetanusgift-neutralisierenden Wirkungen des Meerschweinchengehirns und des Antitoxins Funktionen sind, die prinzipiell als gleichwertige angesehen werden müssen. Derselbe Schluß auf unseren Versuch angewendet, würde sagen, daß die Wirkung der Gelatine und die der Agglutinine gleichwertige Funktionen sind.

Wären die Bakterien im stande, viel Gelatine zu binden, so könnte man sich auch vorstellen, daß dieselbe, um den üblichen Ausdruck zu gebrauchen, den Rezeptor der Bakterien verstopfen und die Bindung des Agglutinins an die Bakterien verhindern würde, so daß Agglutinationshemmung zu stande käme. Das ist jedoch bei den Typhusbacillen nicht der Fall, welche, wie wir gesehen haben, nur sehr wenig Gelatine absorbieren.

Beim Sterilisieren der mit Bouillon verdünnten Gelatine trat jedesmal eine Trübung der Röhrchen ein. Dieselbe blieb aus, wenn die alkalische Bouillon neutralisiert oder leicht angesäuert wurde. Diese Trübung bildete sich auch nach Zusatz von Sodalösung zur Gelatine; beim Erhitzen über der Flamme wurde sie stärker und schied sich unter Flockenbildung als Niederschlag ab. Die mikroskopische Untersuchung des Bodensatzes ergab rhombische Kristalle; nach Zusatz von Schwefelsäure bildeten sich unter Gasentweichung (Kohlensäure) Gipsnadeln. In diesem Niederschlag ist neben anderem wohl zum größten Teile der Calciumgehalt der Gelatine enthalten, der durch Alkalien ausgefällt wird. Setzt man zum Gelatine-Bakteriengemisch Sodalösung, so entsteht ebenfalls dieses Präzipitat, das die Bakterien mit zu Boden reißt. Man könnte auf den Gedanken kommen, daß die Gelatineagglutination nur

darin besteht, daß sich der genannte Niederschlag bildet und die Bakterien mitausfällt. Das konnte außer vielem anderem dadurch mit Sicherheit ausgeschlossen werden, daß man die Bakterienbouillon neutral oder leicht sauer machte, da sich ja dann der Niederschlag nicht bildete. Bei den Typhusbacillen trat in der leicht saueren Bouillon nur sehr mühsam Agglutination ein, was jedoch seinen Grund darin hat, daß die allergeringste Spur von Säure, noch bevor der Umschlag in die saure Reaktion eintritt (Eisenberg und Volk) ihre agglutinierbare Substanz schon sehr schwer schädigt. Bei den Choleravibrionen, deren agglutinierbare Substanz nicht nur gegen Hitze, sondern auch gegen Säuren resistenter ist, trat in der leicht saueren Mischung Agglutination ein. Größere Säuremengen zuzusetzen ist unstatthaft, weil sich in der Bouillon durch Ausfallen des in ihr enthaltenen Eiweißkörpers ein Niederschlag bildet.

Es war noch von Interesse zu untersuchen, wie sich die Gelatine in ihren agglutinierenden Eigenschaften nach Ausfällen des mit Soda erzielten Niederschlages verhält, da ja dem Calciumgehalt der Gelatine auch bei der Blutgerinnung eine Bedeutung zukommt. Die nun zur Agglutination verwendete Gelatine gab nach Sodazusatz auch beim Erhitzen über der Flamme keine Trübung mehr. Diese Gelatine, die durch den Na_2CO_3 -Zusatz sehr stark alkalisch war, wurde durch Schwefelsäurezusatz auf den Alkaleszenzgrad der Kontrollgelatine gebracht, wobei diese durch Kochsalzlösung so weit verdünnt wurde, wie erstere durch den Sodazusatz. Diese Gelatine agglutinierte nun im Verhältnis zur Kontrollgelatine sehr rudimentär, oder hatte ihre agglutinierende Eigenschaft vollständig verloren, wobei jedoch bemerkt sei, daß die erschöpfte Gelatine mit Na_2CO_3 noch einen Niederschlag gab; es ist hieraus ersichtlich, daß der Calciumgehalt nicht die direkte Ursache der Agglutination ist, wenn auch seine Anwesenheit notwendig sein sollte. Auch dieser Befund ist in Einklang zu bringen mit dem spezifischen Serum, da wir ja wissen, eine wie große Rolle die kristalloiden Körper für das Zustandekommen der Agglutination spielen (Joos, Friedberger). Die Bedeutung der übrigen Salze und kristalloiden Körper für die Gelatineagglutination genauer zu bestimmen, fiel nicht in den Rahmen der Untersuchungen.

Die Zusammenfassung der hier gefundenen Resultate ergibt etwa folgendes:

- 1) Die Gelatine wirkt ebenso wie das spezifische Serum auf die agglutinable Bakteriensubstanz. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVII. 1904. Heft 1.)
- 2) Die Gelatine wirkt auf den spezifischen Rezeptor der Bakterien (haptophore Gruppe).
- 3) Die Gelatine wird ebenso wie das spezifische Serum von den Bakterien gebunden (verbraucht).
- 4) Die Gelatine und das spezifische Serum summieren sich in ihren Wirkungen.
- 5) Auch bei der Gelatineagglutination kommt wie beim spezifischen Serum den kristalloiden Körpern eine große Bedeutung zu, hier wahrscheinlich den Kalksalzen.

Der Parallelismus der Wirkung der Gelatine und der Agglutinine ist, wie hieraus ersichtlich, ein sehr weitgehender, die Unterschiede, die hierin zutage treten, sind nicht qualitativer, sondern nur quantitativer Natur. Die wirklichen Differenzen bestehen in der Nichtspezifität der

Gelatine gegenüber den allerdings auch nur quantitativ spezifischen Agglutininen und in der Unmöglichkeit, die Gelatine durch Hitze zu inaktivieren. Ob diese Differenzen ausreichen, um einen so prinzipiellen Unterschied zwischen den agglutinierenden Eigenschaften der Gelatine und den spezifischen Agglutininen aufzustellen, erscheint zweifelhaft.

Nach den jetzt geltenden Anschauungen müßte man auch der Gelatine mindestens eine haptophore Gruppe zuschreiben, die in einen Bakterienrezeptor „paßt“. Nun ist aber die Wirkung und Absorption der Gelatine nicht spezifisch, woraus wieder der Schluß einer Identität oder Verwandtschaft der Rezeptoren für Typhus und Cholera gerechtfertigt wäre. Einer solchen Identität widersprechen aber die Absorptionsversuche mit spezifischem Serum. Dieser Widerspruch ist bei der Annahme von Agglutininen als eigenen Stoffen durch eine chemische Vorstellung durch Bindung nicht zu lösen. Eher erscheint eine Lösung physikalisch möglich, wenn man die Agglutination als eine Eigenschaft auffaßt, die dem Serum, der Gelatine und verschiedenen anderen kolloidalen Körpern (kolloidale Kieselsäure. Landsteiner und Jagic) zukommt.

Literatur.

- 1) Bail, Versuche über Typhusagglutinine und Präzipitine. (Archiv f. Hyg. Bd. XLII.)
- 2) Eisenberg u. Volk, Untersuchungen über die Agglutination. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. Heft 1.)
- 3) Friedberger, Ueber die Bedeutung der anorganischen Salze und einiger organischer krystalloid. Substanz für die Agglutinine der Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXX)
- 4) Joos, Untersuchungen über den Mechanismus der Agglutination. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI.)
- 5) Marx, Ueber Tetanusgift-neutralisierende Wirkung der Gehirnes. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. Heft 2.)
- 6) Landsteiner u. Jagic, Ueber die Analogie der Wirkung kolloidaler Kieselsäure mit den Reaktionen der Immunkörper und verwandten Stoffe. (Wiener klin. Wochenschrift. 1904. No. 3.)

Nachdruck verboten.

Filtrierbarkeit der Geißeln der Bakterien und ihre Funktion als freie Rezeptoren.

[Aus dem hygienischen Institut der k. Universität Pisa
(Direktor: Prof. Dr. Di Vestea).]

Von Dr. **Gino de' Rossi**, I. Assistenten und Privatdozenten.

Schon von verschiedenen Autoren wurde in sterilen Filtrationsflüssigkeiten von Kulturen einiger Bakterienarten die Existenz von gewissen Substanzen wahrgenommen, welche die Agglutinine der spezifischen Sera fixieren und durch Inokulation an Tieren die Agglutinine selbst hervorrufen können. Unter anderen bewiesen neulich Neisser und Shiga¹⁾ dieselbe Tatsache, indem sie Agarkulturen vom Typhusbacillus in einer physiologischen NaCl-Solution emulsionierten, eine Stunde bei 60° erwärmten und nach einem 2-tägigen Aufenthalt im Ofen bei 37°

1) Ueber freie Rezeptoren von Typhus- und Dysenteriebacillen u. s. w. (Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 4.)

durch eine Berkefeld-Kerze filtrierten, und eine Flüssigkeit erhielten, in der diese „freien Rezeptoren“ zahlreich waren. Dieses wurde von De Blasi und De Berardinis¹⁾ bestätigt.

Andererseits, wie ich es in einer Mitteilung vom 23. März 1904 an die Medizinische Akademie in Pisa²⁾ bewiesen habe, ist es möglich, in Wasser- oder physiologischen NaCl-Emulsionen von frischen Belägen des *Bac. subtilis* durch Schütteln und Zentrifugation die Abtrennung der Geißeln zu erreichen, die in der klaren Flüssigkeit obenaufschwimmen, während die Bakterienkörper sich auf dem Boden der Röhre ansammeln. So konnte ich beweisen, daß die Geißeln, welche die agglutininbildende Fähigkeit mit dem bakteriischen Protoplasma gemeinsam haben, die agglutininfixierende Fähigkeit im höchsten Grade besitzen.

Durch Vergleich dieser beiden Reihen von Tatsachen konnte man leicht zu der Ueberzeugung kommen, daß eine Untersuchung über eine eventuelle Identifizierung der „freien Rezeptoren“ von Neisser und Shiga mit den durch die Berkefeld-Kerze filtrierbaren Geißeln nicht unnütz sein würde.

Schon vor einiger Zeit hatte ich zu einem anderen Zweck zwei Experimente angestellt, indem ich eine Emulsion von *Bac. subtilis* (nach der in meiner obenerwähnten Mitteilung angegebenen Technik präpariert) durch neue, resp. alte Berkefeld-Kerze V bei Druck von 2 Atmosphären filtrierte. Die vollkommen klare, farblose Filtrationsflüssigkeit, in der die mikroskopische Untersuchung so wie die gewöhnlichen Färbungsmethoden und die kulturelle Untersuchung ein absolut negatives Resultat lieferten, zeigte, mit meiner Färbungsmethode behandelt, zahlreiche unversehrte oder zerbrochene Geißeln.

Ein drittes Experiment, das ich neulich mit Typhusbacillen machte, will ich ausführlicher beschreiben, nicht nur weil es mir noch bessere Resultate betreffend die Zahl und die Integrität der Geißeln geliefert hat, sondern auch weil meine früheren Behauptungen über die Funktion dieser Organe bei der Agglutination eine Kontrolle dadurch erhalten, die noch strenger ist, weil die durch die Filtration erlangten Geißel-emulsionen absolut frei von Bakterienkörpern sind.

12 Beläge von Typhusbacillus (kürzlich solidifizierte 18 Stunden lang bei 37° gehaltene Agarkulturen) wurden in 150 ccm sterilem Destillierwasser emulsiert. Um die Abtrennung der Geißeln zu erleichtern, wurde die Flüssigkeit eine Viertelstunde lang geschüttelt, nachher in den Behälter des Filtrationsapparates gegossen, der mit einer neuen sterilisierten Kerze Berkefeld V montiert war. Die Kerze hatte bei einer Probe mit dem Druck von 1 m Wasser 8,600 l per Stunde gegeben, d. h. dieselbe hatte eine Filtrationsgeschwindigkeit von 0,255 m per Stunde.

Die Filtration wurde bei einem Druck von 2 Atmosphären ausgeführt und die klare farblose Flüssigkeit sammelte sich in dem sterilisierten, mit der Kerze in Verbindung stehenden Gefäß an. Diese Flüssigkeit, in der die mikroskopische so wie die kulturelle Untersuchung keine Bacillen zeigte, wurde benutzt, um einige Präparate für die Geißeluntersuchung zu bereiten, und zwar wurde nicht die Flüssigkeit selbst, sondern eine

1) Ricerche sulle agglutinine del tifo. (Annali d'Igiene speriment. 1903. p. 593.)

2) Cfr. die Berichterstattung der Sitzung im Giornale Italiano delle scienze mediche. 1904. No. 7. Die Mitteilung erschien nachher im Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXVI. 1904. p. 685 u. Bd XXXVII. p. 107.

starke Verdünnung derselben benutzt, da der Ueberfluß an Material den Erfolg der Färbung verhindert hätte.

Auf ein Uhrglas goß ich $\frac{3}{10}$ ccm sterilisiertes destilliertes Wasser und fügte mit einer kleinen Platinöse 5 Tröpfchen Filtrationsflüssigkeit hinzu, die nach dem Durchschnitt von verschiedenen Messungen das Volumen von $\frac{3}{1000}$ ccm hatten; die Dilution war also circa $\frac{1}{100}$. Die Präparate, mit meiner Methode gefärbt, lieferten gleich ein sehr gutes Resultat, indem sie zahlreiche Geißeln zeigten; die meisten waren unversehrt und sahen, was Form und Größe betrifft, ganz normal aus.

Um das Experiment noch überzeugender zu machen, legte ich ca. 30—40 ccm der Flüssigkeit zur Seite, um die übrige Flüssigkeit einer zweiten Filtration zu unterwerfen, die ich mit einem kleinen, sehr widerstandsfähigen Porzellanfilter (Filtrationsgeschwindigkeit 0,01 m per Stunde) bei dem negativen Druck von einer Atmosphäre ausführte, durch eine Quecksilberluftpumpe eingeleitet.

Als ich glaubte, daß schon ca. 80 ccm der Flüssigkeit filtriert waren, wurde das Filtrierte sowie das Residuum der Färbung unterworfen, das erste mit negativem Resultat, während das zweite sich als viel reicher an Geißeln als die primitive Flüssigkeit zeigte. Mit jeder von den 3 Flüssigkeiten, Filtrationsflüssigkeit, zweite Filtrationsflüssigkeit und Residuum der zweiten Filtration, wurden Kaninchen endoperitoneal eingespritzt. Im folgenden teile ich das agglutinierende Vermögen der Sera mit, wie ich sie am 7. Tage nach der Inokulation aus mit 10 ccm inokulierten Kaninchen erhalten hatte.

Diese so wie die folgenden Untersuchungen habe ich nach der in meiner früheren Mitteilung ausführlich beschriebenen Technik ausgeführt.

Die Agglutination des Typhusbacillus wird durch das Kaninchenserum hervorgerufen: Nach Inokulation mit der Filtrationsflüssigkeit in der Verdünnung 1:100 angewendet — nach Inokulation mit dem Residuum der zweiten Filtration in der Verdünnung 1:250 — nach Inokulation mit der zweiten Filtrationsflüssigkeit in der Verdünnung 1:15.

Andererseits prüfte ich (siehe für die Technik die schon zitierte Mitteilung) das fixierende Vermögen der Agglutinine durch die 3 Flüssigkeiten, indem ich diese mit verschiedenen Quantitäten von Serum eines mit Typhus inokulierten Kaninchens mischte — das Serum war stark agglutinierend (mehr als $\frac{1}{2000}$) und in der Verdünnung $\frac{1}{250}$ gebraucht. Als dann prüfte ich das agglutinierende Vermögen der Mischungen auf junge Bouillonkulturen. Die durch diese Untersuchungen erhaltenen Resultate kann ich folgendermaßen kurz zusammenfassen:

Das agglutinierende Vermögen des in der Verdünnung $\frac{1}{250}$ angewendeten Serums wird durch den Zusatz eines ca. gleichen Volumens der ersten Filtrationsflüssigkeit vollkommen vernichtet.

Dasselbe geschieht durch den Zusatz von $\frac{1}{3}$ — $\frac{1}{4}$ seines Volumens von dem Residuum der zweiten Filtration.

Keinen Einfluß üben dagegen 5—6 Volumen der zweiten filtrierten Flüssigkeit aus.

Eine Wiederholung dieser Experimente erschien mir als ganz unnütz, sei es weil die hier angegebenen sehr deutlich sind, sei es auch, weil, wie gesagt, sie nichts weiter als eine strenge, mit einer anderen Bakterienart ausgeführte Kontrolle von jenen zahlreichen Experimenten sein sollten, die ich in meiner früheren Arbeit mitgeteilt habe.

Ich kann daher beweisen, daß die Geißeln durch Kerzen Berkefeld V sehr leicht filtrieren und in den sterilen Filtrationsflüssigkeiten eine energische Wirkung als freie Rezeptoren (agglutininbildende und agglutininfixierende) ausüben.

Schon Nicolle hatte eine Hypothese aufgestellt, die mit der von mir bewiesenen Tatsache übereinstimmt, indem er in einer neulich erschienenen Mitteilung¹⁾ die Möglichkeit ausdrückte, daß die agglutinierenden Substanzen der filtrierten Kulturen aus den Geißeln der Bakterien bestehen könnten: „Pour appuyer cette hypothèse, sagt er, nous avons cherché à mettre en évidence la présence de cils ou débris de cils dans les cultures filtrées de bacille typhique avant ou après addition de sérum. Nous n'y sommes pas parvenus. Les difficultés de cette recherche sont telles que ce résultat négatif ne saurait rien prouver.“

Ein Vergleich zwischen dieser Behauptung eines Verfassers wie Nicolle und der Leichtigkeit, mit der ich die Anwesenheit der Geißeln in Filtrationsflüssigkeiten von *Bac. subt.* und *Typhusbacillus* beweisen konnte, scheint mir der beste Beweis zu sein für die Vortrefflichkeit meiner Färbungsmethode gegenüber den anderen, die bis jetzt gebraucht worden sind.

Nachdruck verboten.

Ueber thermolabile Stoffwechselprodukte als Ursache der natürlichen Wachstumshemmung der Mikroorganismen.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Utrecht.]

Von Prof. Dr. C. Eijkman.

Wie schon die tägliche Erfahrung im Laboratorium lehrt, ist das Wachstum der Bakterienkulturen, falls keine Uebertragung auf frisches Nährsubstrat stattfindet, namentlich für die rasch sich vermehrenden Arten ein zeitlich ziemlich engbegrenztes.

Es haben sich gerade in der letzten Zeit mehrere Forscher speziell mit dieser Frage beschäftigt. Aus mit *B. coli*, *B. typhi* und *V. cholerae* angestellten Untersuchungen von Müller²⁾, von Gotschlich und Weygand³⁾ und von Hehewerth⁴⁾ geht hervor, daß die Vermehrungsintensität sehr rasch, bei optimaler Temperatur (37°) schon nach einzelnen wenigen Stunden, nachzulassen anfängt, um relativ schnell, nicht selten bereits von der 12.—20. Stunde an, durch ein massenhaft stattfindendes Absterben überholt zu werden. Die „Wachstumskurve“ — die sich ergibt, wenn man die Zeiten als Abscissen, die Zahl der lebenden Individuen als Ordinaten aufträgt — erreicht also bei Bruttemperatur schon in kurzer Zeit ihren Höhepunkt; von da an geht sie ziemlich steil abwärts. Bei Zimmertemperatur findet ein sehr viel langsames Ansteigen und Abfallen der Kurve statt, das Maximum

1) Suite d'expériences relatives au phénomène de l'agglutination des microbes. (Annales de l'Institut Pasteur. 1904. April. p. 239—240.)

2) Centralbl. f. Bakt. u. Par. Bd. XX.

3) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XX.

4) Inaug.-Dissert. Amsterdam. 1900. Arch. f. Hyg. Bd. XXXIX.

wird für *V. cholerae* z. B. erst am Ende des zweiten Tages (anstatt wie bei 37° schon nach 12 Stunden) erreicht¹⁾.

Als ein sehr augenfälliges Zeichen davon, wie das Wachstum einer Kultur von der Beschränktheit des Nährsubstratquantums beeinflußt wird, ist die eigentümliche Form der Strichkultur auf schräg erstarrter Nährgallerte anzusehen. Dieselbe verschmälert sich bekanntlich allmählich von unten nach oben zu. Ein einfacher Versuch belehrt darüber, daß dies nicht dem Umstande zuzuschreiben ist, daß die mit der Impfung aufgetragene Kulturmasse unten am größten ist und nach oben zu abnimmt. Denn falls die Impfung in der umgekehrten Richtung als wie sonst üblich geschieht, so ergibt sich dennoch die gleiche Wuchsform der Strichkultur. Dahingegen zeigt sich eine Strichkultur, die auf einer gleichmäßig dicken Schicht eines festen Nährbodens angelegt wurde, über ihre ganze Länge von gleicher Breite.

Der Grund für die erwähnte Wuchsform auf schräg erstarrtem Agar oder Gelatine ist mithin wohl darin zu suchen, daß mit der nach oben zu an Breite und Tiefe abnehmenden Nährbodenschicht auch die Wachstumsbedingungen weniger günstig werden. Ein infolge der variablen Dicke ungleiches Eintrocknen des schräg erstarrten Nährbodens kann — wie ein einfacher Versuch (mit frisch vorbereitetem Substrat und unter Verhütung des Eintrocknens) lehrt — der erwähnten Erscheinung nicht ohne weiteres zu Grunde liegen. Es müssen also wohl die Erschöpfung des Nährbodens einerseits, die Anhäufung von wachstumhemmenden Stoffwechselprodukten andererseits hierbei in Betracht gezogen werden. Und dann ist es ohne weiteres klar, daß, wo die Nährbodenschicht am dicksten und breitesten ist, nicht allein größere Mengen von Nährstoffen zur Verfügung stehen, die ja durch Diffusion nach dem Orte des Verbrauchs gelangen können, sondern daß es daselbst auch weniger leicht zu einer für die Entwicklung der Kultur schädlichen Anhäufung von Stoffwechselprodukten kommen wird.

Diese schädlichen Produkte sind zum Teil noch sehr unvollständig bekannt. In einigen Fällen scheint es sich nach den vorliegenden Untersuchungen um thermolabile Stoffe zu handeln, so daß der Gedanke an enzymartige Stoffe naheliegt. So fand Frankland²⁾, daß die für *B. coli* und *B. typhi* schädliche Wirkung des rohen Themsewassers durch Erhitzung, nicht aber durch keimfreies Filtrieren aufgehoben wurde. Ähnliche Befunde speziell mit Bezug auf Wasserbakterien werden von Miquel³⁾ mitgeteilt. Dahingegen fand Hilsum⁴⁾, daß die Wachstumshehmung nicht nur durch Erhitzen, sondern auch durch keimfreies Filtrieren des Wassers beseitigt wurde.

Lode⁵⁾ entdeckte gelegentlich einen Coccus, der auf *Micrococcus tetragenus* und, wie sich bei weiteren Nachforschungen herausstellte, auch auf andere Mikroorganismen eine antagonistische Wirkung ausübte, was daraus hervorging, daß, wenn der Antagonist auf die frisch besäte Platte in Form von Impfstrichen aufgetragen wurde, sich Hemmungskreise um dieselben bildeten. Weitere Versuche mit keimfrei filtrierten Bouillonkulturen des betreffenden Organismus lehrten, daß das wirksame

1) Gotschlich in Kolle und Wassermanns Handb. der pathog. Mikroorganismen. Lief. 1. p. 116.

2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIX.

3) Manuel pratique d'analyse bactériologique des eaux. 1901. p. 153.

4) Inaug.-Dissert. Amsterdam. 1900.

5) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXXIII. No. 3.

Prinzip ein thermolabiles Produkt ist. Weil die antagonistische Wirkung durch Erwärmung auf 60° zwar beeinträchtigt, aber erst bei länger dauernder Erhitzung im strömenden Wasserdampf völlig aufgehoben wird, und es sich dazu um einen dialysierbaren Körper handelt, nimmt Lode wohl mit Recht Anstand, ein Enzym anzunehmen. Anders Emmerich und Löw, die ihre Pyocyanase als ein enzymartiges Ausscheidungsprodukt auffassen, obwohl dasselbe nichts weniger als thermolabil ist; wird es ja durch halbstündiges Kochen bei 100° noch nicht zerstört.

In jüngster Zeit untersuchte Kreucher¹⁾ die bakterizide Wirkung der Filtrate von Bouillonkulturen verschiedenen Alters von *B. pyocyaneus*, *B. prodigiosus*, *proteus vulgaris*, *B. fluorescens liquefaciens*, *Staphylococcus*, auf Milzbrand- und Typhusbacillen. Er fand bei *B. pyocyaneus* die stärkste Bakterizidie, die schon am zweiten Tage nachweisbar war. Bei *B. prodigiosus* und *proteus* war dieselbe erst in 4–6 Wochen alten und dann filtrierten Kulturen nachzuweisen und wurde durch Verdünnung (1:1) aufgehoben. Ähnliches gilt von *B. fluorescens* und *Staphylococcus*. In allen Filtraten gingen Milzbrandbacillen leichter zu Grunde als Typhusbacillen. Die bakterizide Wirkung der Filtrate wurde meistens durch $\frac{1}{2}$ -ständliches Erhitzen auf 100° aufgehoben. In diesen Fällen scheint es sich somit um bakteriolytische, enzymartige Bakterienprodukte zu handeln. Dieselben verschwinden nach gewisser Zeit wieder aus den Kulturen.

Bei den nachstehend mitzuteilenden Untersuchungen, die zum Zweck hatten, zu erforschen, inwieweit thermolabile Stoffwechselprodukte bei der spontanen Entwicklungshemmung eine Rolle spielen, werde ich der Uebersichtlichkeit wegen unterscheiden zwischen Isantagonismus und Heterantagonismus, je nachdem es sich um für die eigene oder für fremde Species feindliche Einflüsse handelt. Eine scharfe Trennung zwischen diesen Einflüssen soll aber damit nicht schon von vornherein entschieden sein.

I. Isantagonismus.

Ein vorläufiger, orientierender Versuch bestand im folgenden:

Es wurden einige Kulturröhrchen mit schwach alkalischer Nährgelatine, nachdem dieselben mit *B. coli* (Stamm A) geimpft und zur Verhütung des Eintrocknens mit Kautschukköppchen versehen waren, in den Brutofen bei 37° gestellt und daselbst während 14 Tagen gelassen. Nach Ablauf dieses Zeitraumes hat sich die Kultur in dem bei 37° naturgemäß flüssigen Nährsubstrat wie in Nährbouillon entwickelt; daselbe ist leicht getrübt, während sich der größere Teil der Bacillen zu Boden gesenkt hat. Die Reaktion ist alkalisch geblieben.

Nachdem die Bacillen durch Schütteln wieder gleichmäßig durch die Gelatine verteilt und die Hälfte der Coli-Gelatineröhrchen während einer Stunde in kochendem Wasser erwärmt waren, wurden alle Röhrchen schräg gestellt und ließ man die Gelatine erstarren. In je eine Röhrchen „gekocht“ und „ungekocht“ wird darauf vom Coli-Stamm A eine Strichkultur angelegt und bei 20° belassen zugleich mit einer Kontrollkultur auf steriler Gelatine.

[Um jeden Zweifel über etwaiges Wachstum der Strichkultur auszuschließen, wurde die Impfung hier wie in allen folgenden Versuchen

1) Inaug.-Dissert. Straßburg. 1903.

mit einer sehr geringen Kulturmenge — einem kleinen Tröpfchen leicht trüber Coli-Bouillon — gemacht. Auch wurde stets darauf geachtet, daß keine alten, sondern lebensfrische Kulturen dazu Verwendung fanden.]

Die übrigen Coli-Gelatineröhrchen wurden in gleicher Weise mit anderen Coli-Stämmen, B und C, geimpft.

Das Ergebnis war folgendes:

Coli-Gelatine als Nährboden	Strichkultur von:		
	Coli A	Coli B	Coli C
1) ungekocht	kein Wachstum Wachstum	spärliches Wachstum Wachstum	spärliches Wachstum Wachstum
2) gekocht			

Wie zu erwarten war, findet auf der Coli-Gelatine keine oder nur kümmerliche Entwicklung der Oberflächenkultur statt. Eine elektive Wachstumbeeinflussung besteht, insoweit der korrespondierende Coli-Stamm (A) gar keine sichtbare Kultur gibt, während die anderen Coli-Stämme lediglich in der Entwicklung aufgehalten werden.

Zweitens ergibt sich die beachtenswerte Tatsache, daß die Wachstumshemmung durch Erhitzung wieder aufgehoben wird. Der Kürze halber werden wir fernerhin von Regenerierung des Nährbodens durch Hitze sprechen.

Die Hemmung des Oberflächenwachstums auf der Coli-Gelatine zeigt sich auch unter Luftausschluß; falls aber die Coli-Bacillen in der Gelatine vorher selbst anaërob gezüchtet worden waren, ist sie weniger ausgeprägt.

Als Ursache der Wachstumshemmung wurde zunächst an folgende Möglichkeiten gedacht:

1) Erschöpfung des Nährbodens durch die vorausgegangene Kultivierung bei 37°. Die Regeneration wäre alsdann etwa darauf zurückzuführen, daß bei der Abtötung der Coli-Bacillen durch die Erhitzung, aus den Leibern derselben Nährstoffe freikommen und nach außen abgegeben werden.

2) Bildung eines flüchtigen, antagonistischen Stoffwechselprodukts in der Coli-Gelatine. Durch die Erhitzung wird dasselbe ausgetrieben.

3) Produktion eines durch Hitze zerstörbaren, entwicklungshemmenden Stoffes.

Die fortgesetzten Untersuchungen lehrten nun diesbezüglich folgendes:

Zunächst stellte sich heraus, daß es gar nicht nötig ist, 14 Tage alte Coli-Gelatine zu benutzen. Wenn sie nur zwei Tage bei 37° gehalten worden war, zeigte sich die Entwicklungshemmung sogar noch stärker, denn diese war nun nicht allein eine absolute für die Strichkultur des adäquaten Coli-Stammes, sondern auch für die anderen Coli-Stämme. Ja, es genügte, geschmolzene, sterile Nährgelatine mit einer frischen, auf Agar gewachsenen Coli-Kultur bis zur leichten Trübung zu vermischen, um einen nach der Erstarrung angelegten Coli-Strich nicht aufkommen zu lassen. Und umgekehrt brauchte man nur die geschmolzene Coli-Gelatine mittelst einer Filterkerze von den Bacillen zu befreien, um sie wieder als Nährboden geeignet zu machen.

Die sub 1 gemachte Voraussetzung einer Erschöpfung des Nährsubstrats als Ursache der Entwicklungshemmung war damit, für unseren Fall wenigstens, ausgeschlossen. Schon lange bevor eine vollständige Erschöpfung eingetreten ist, hört offenbar die Vermehrung der Coli-bacillen auf.

Die sub 2 und 3 gemachten Annahmen eines durch Hitze sich verflüchtigen oder zerstörbaren antagonistischen Stoffes wurden durch den Ausfall der Filtrierversuche auch weniger wahrscheinlich, es wäre denn, daß es sich um einen Stoff handelte, der die Porzellankerze nicht oder wenigstens schlecht passierte. Auf diesen Punkt kommen wir später zurück. Nur sei hier bemerkt, daß Versuche mit papierdünner Porzellanfilterschicht an dem Resultat nichts zu ändern vermochten.

Es war immerhin noch denkbar, daß der hypothetische entwicklungshemmende Stoff sich ausschließlich in der oberflächlichen Schicht der Coli-Gelatine in Verbindung mit Luftzutritt bildete: der Effekt des Filtrierens, wobei jener Stoff in die Gelatine verteilt und seine Neubildung durch Entfernung der Mikroorganismen ausgeschlossen wurde, liefe alsdann auf eine Verdünnung desselben hinaus. Es wurde darum ein Versuch angestellt, wobei die Coli-Gelatine in sehr dünner Schicht ausgebreitet während 2 Tagen bei 22° belassen, danach bei 37° geschmolzen und zur Hälfte filtriert wurde. Auch nun ergab die Strichkultur auf der nicht filtrierten Coli-Gelatine wiederum ein negatives, auf der filtrierten Hälfte aber ein positives Resultat. Die oben gemachte Voraussetzung bestätigte sich also nicht.

Was dann weiter die sub 2 erwähnte Annahme anbetrifft, so konnte dieselbe endgültig ausgeschlossen werden durch einen Versuch, wobei die Coli-Gelatine in einem zugeschmolzenen Röhrchen erhitzt wurde. Der Erfolg betreffs der Regenerierung des Nährbodens war kein anderer als bei offener Erhitzung. Um einen flüchtigen aber thermostabilen, antagonistischen Stoff handelt es sich mithin nicht.

Bleibt also die dritte Möglichkeit, daß die entwicklungshemmende Wirkung gebunden ist an einem thermolabilen, nicht flüchtigen und nicht filtrierbaren Bestandteil der Coli-Gelatine. Die daraufhin gerichteten Untersuchungen ergaben nun zunächst, daß das Wiedergeeignetwerden der Coli-Gelatine als Nährboden schon bei viel niedrigerer Temperatur und kürzerer Einwirkungsdauer erfolgt als wovon oben die Rede war. Im allgemeinen kann gesagt werden, daß der zur Regenerierung erforderliche Wärmegrad und die Dauer des Erhitzens innerhalb der gleichen Grenzen sich bewegen als wobei das Absterben der Bakterien stattfindet. Bekanntlich zeigen die verschiedenen Individuen einer Bakterienkultur nicht die gleiche Resistenz gegen Hitze; während ein Teil derselben schon bei relativ niedriger Temperatur bzw. kurzer Einwirkung absterben, erweisen andere sich viel widerstandsfähiger. Bei Versuchen mit Coli-Gelatine stellte sich heraus, daß für eine Dauer des Erhitzens von 15 Minuten die Temperaturgrenze, wobei das Absterben der Bakterien und die damit einhergehende Regeneration des Nährbodens anfängt, sich bemerkbar zu machen, bei 50–52° liegt; schon bei 56 bis 58° aber ist die Wirkung maximal, d. h. die Bakterien sind alsdann nach 15 Minuten sämtlich abgestorben und die Regenerierung wird durch stärkeres oder länger dauerndes Erhitzen nicht weiter gefördert.

Nebenbei sei bemerkt, daß nach der Erhitzung die Strichkultur gewöhnlich nicht so kräftig sich entwickelt als im Kontrollröhrchen mit frischer, steriler Gelatine. Namentlich ist dies nicht der Fall, wenn es sich um schon ältere Coli-Gelatine handelt. Offenbar sind dann andere hemmende Faktoren (teilweise Erschöpfung des Nährbodens, thermostabile Stoffwechselprodukte?) mit im Spiele, die durch die genannten Verfahren nicht beseitigt werden. Der Unterschied ist aber der, daß, während auf der mit lebenden Bacillen vermischten Gelatine offenbar

jede Vermehrung sistiert, nach der Erhitzung oder Filtration wenigstens wiederum sichtbares Wachstum stattfindet. Auch zwischen der erhitzten und der filtrierten Coli-Gelatine besteht ein Unterschied in dem Sinne, daß auf der ersteren das Wachstum gewöhnlich kräftiger ist. Hier spielt nicht unwahrscheinlich der schon oben sub 1 erwähnte Umstand, das Freikommen von Nährstoffen aus den Leibern der abgetöteten Bacillen, eine Rolle.

Allem Anscheine nach ist also die Aufhebung des Oberflächenwachstums von der Anwesenheit lebender Coli-Bacillen in der Gelatine bedingt. Werden dieselben durch Hitze getötet oder durch Filtrieren aus dem Nährboden entfernt, so kann wiederum Vermehrung auf demselben stattfinden.

Diese Auffassung fand ihre weitere Bestätigung in dem Befunde, daß auch andere bakterientötende Mittel die Regenerierung des Coli-Nährbodens zu stande bringen können.

Als solches wurde zunächst Aether versucht. Die Coli-Gelatine, in geschmolzenem Zustande innig damit vermischt, wurde so lange aufbewahrt, bis — wie ein Kontrollversuch lehrte — die Bacillen abgestorben waren. Alsdann ließ man den Aether durch Erwärmung auf 37° verflüchtigen und auf der von Aether befreiten und schräg erstarrten Gelatine wurde mit Coli geimpft. Das Resultat war positiv.

Der Verlauf war der nämliche, als anstatt des Aethers gelbes Schwefelammonium verwendet wurde, das — wie sich gelegentlich herausgestellt hatte — auch bakterizid wirkt und sich durch Verflüchtigung wieder entfernen läßt.

Versuche, die bezweckten, durch Eintrocknen oder durch Lichteinwirkung die Coli-Bacillen in der Gelatine abzutöten, sind fehlgeschlagen.

Weiterhin war die naheliegende Frage zu beantworten, ob die an *B. coli* gefundenen Tatsachen auch für andere Mikroorganismen zutreffen. Da stellte sich denn heraus, daß ganz die gleichen Resultate auch mit anderen Kulturen zu erzielen sind. Untersucht wurden von den Gelatine nicht verflüssigenden Arten: *B. typhi*, *B. dysenteriae* (Shiga-Kruse), *B. erythrosporus*, *B. phosphorescens* (Fischer). Die verflüssigenden Arten konnten natürlich nicht mit Gelatine als Substrat untersucht werden. Nachdem sich aber für *B. coli* herausgestellt hatte, daß die Versuche auch mit Agar gelingen, konnten auch verflüssigende Mikroorganismen einer Prüfung unterzogen werden. Die Versuche wurden gemacht mit *V. cholerae* und anderen Vibrionen, *B. anthracis*, *B. pyocyaneus*, *B. prodigiosus*, *B. subtilis* und schließlich auch mit einem Sproßpilz aus Preßhefe. In allen diesen Fällen war das Ergebnis ein gleiches, nämlich daß bei Verteilung einer genügenden Menge der betreffenden Kultur in das Substrat ein sichtbares Oberflächenwachstum nicht stattfindet, daß aber eine Regenerierung des Nährbodens erfolgt durch Erhitzung desselben. Filtrierungsversuche mit Agar waren selbstverständlich ausgeschlossen wegen der zum Schmelzen des Agars benötigten hohen Temperatur, die an sich schon eine Regenerierung des bakterienhaltenden Nährbodens zu stande gebracht hätte. Immerhin weisen alle Beobachtungen darauf hin, daß, was für *B. coli* konstatiert wurde, auch für andere Arten Geltung hat. Es scheint sich somit um eine allgemeine Erscheinung bei pflanzlichen Mikroorganismen zu handeln.

Was nun weiter die Erklärung dieser Erscheinung anbetrifft, so

könnte man meinen, wie das auch mein erster Eindruck war, daß es sich um eine Art Antagonismus zwischen Oberflächen- und Tiefenwachstum handelte. In dieser Meinung wurde ich bestärkt durch die Wahrnehmung, daß nicht selten, obwohl die Strichkultur nicht aufkam, in der oberen Schicht der Coli-Gelatine dennoch eine deutliche Vermehrung, kenntlich an einer Zunahme der Trübung daselbst, stattfand. Ja, streng genommen wäre das Anlegen einer Strichkultur nicht einmal nötig, um diesen Antagonismus zu demonstrieren. Denn, ebenso wie eine in festem Nährsubstrat sich entwickelnde Kolonie, bei ihrem Wachstum an der Oberfläche angelangt, sich darüber mehr oder weniger ausbreitet, hätte man doch erwarten müssen, daß die in der oberen Schicht der Coli-Gelatine sich vermehrenden Bakterien schließlich auch die ganze Oberfläche überdecken würden. Daß dies nicht der Fall war, könnte mithin schon ohne weiteres als Beweis für einen solchen Antagonismus gelten.

Eine andere Auffassung war jedoch noch nicht ganz als ausgeschlossen zu erachten, die nämlich, daß bei Anwesenheit vieler Bakterien im Substrat nicht nur das Wachstum oberhalb, sondern auch innerhalb desselben gehemmt wird. Die Zunahme der Trübung in der oberen Gelatineschicht steht mit dieser Auffassung nicht direkt im Widerspruch. Denn schon eine relativ geringe Vermehrung, z. B. Verdoppelung der Anzahl, ist offenbar genügend, um eine deutliche Zunahme der Trübung zu verursachen, während für ein sichtbares Oberflächenwachstum eine sehr viel kräftigere Vermehrung notwendig erforderlich ist.

Auch muß hier darauf hingewiesen werden, daß — wie schon die makroskopische Vergleichung mit einem Kontrollröhrchen lehrt, worin die Coli-Bacillen mittelst Formalin getötet worden sind — von einem bestimmten Bakteriengehalt (bzw. Trübungsgrad) der Coli-Gelatine an keine Vermehrung in der oberen Schicht derselben, auch wenn sie frisch bereitet worden ist, mehr zu konstatieren ist. In den tieferen Schichten ist dies sogar schon bei einem noch weit geringeren Bakteriengehalt der Fall.

Quantitative Untersuchungen waren hier mithin am Platze. Bei deren Ausführung wurde sowohl die direkte mikroskopische Zählung als das Plattenverfahren in Anwendung gezogen, indem es mir darauf ankam, sowohl die ganze Zahl der in der Gelatine enthaltenen Bakterien als den lebenden Anteil davon zu ermitteln. Die Bestimmung der ganzen Zahl war notwendig, um die Frage, ob Vermehrung oder nicht, richtig beurteilen zu können. Die lebende Zahl allein zu wissen, ist dazu nicht genügend, denn man kann sich denken, daß dieselbe gleich geblieben ist oder sogar abgenommen hat, und daß dennoch eine Vermehrung stattgefunden hat. Es müßte dann die Vermehrung durch Absterben kompensiert bzw. überkompensiert worden sein.

Für die mikroskopische Zählung wurde ein bestimmtes, mit der Platinöse abgemessenes Quantum der geschmolzenen Coli-Gelatine, wo nötig noch mit steriler Nährgelatine vermischt, auf ein Deckglas in gleichmäßiger Schicht ausgebreitet, nach der Erstarrung in Formalin gehärtet, mit Methylenblau gefärbt, durch Alkohol entwässert und in Canadabalsam eingeschlossen. Die Zählung geschah mit Hilfe eines quadrierten Okularmikromessers und verschiebbaren Objektträgers.

Bei der Anwendung des Plattenverfahrens wurde genau darauf geachtet, daß die Gelatineschicht gleichmäßig dick war. Weil aber der Boden der Petri-Schalen nicht ganz flach ist, wurde in der wagerecht gestellten Schale zuvor eine sterile Agarplatte gegossen, die nun als

genau flache Unterlage für die Gelatineplatte dienen konnte. Die Verteilung der Kolonien in die letztere war nun pro Quadratcentimeter eine viel regelmäßigere, als wenn sie ohne weiteres in die Petri-Schale gegossen wurde.

Die Versuche wurden so gemacht, daß von der bei Zimmertemperatur belassenen Coli-Gelatine, die frisch bereitet war, unmittelbar nach der Bereitung und weiterhin von Tag zu Tag Probben für die Bestimmungen genommen wurden, um die im Verlauf der Zeit eintretenden numerischen Veränderungen verfolgen zu können. Die Coli-Gelatine selbst wurde jedesmal nach der Probeentnahme in dünner Schicht (Rollröhrchen) erstarren gelassen, weil die Bedingungen für die Vermehrung alsdann am günstigsten waren. Denn, wie schon bemerkt, findet bei Aufbewahrung in dicker Schicht eine Vermehrung vorwiegend in den obersten Partien statt.

Die Ergebnisse einiger Bestimmungen folgen hier; die Zahlen sind berechnet pro Kubikmillimeter Gelatine.

Versuch I.			Versuch II.		
	mikroskopische Zählung	Platten- verfahren		mikroskopische Zählung	Platten- verfahren
1. Tag	2 169 000	1 130 000	1. Tag	4 205 000	1 408 000
2. "	6 060 000	3 279 000	2. "	6 320 000	4 240 000
3. "	5 619 000	2 486 000	3. "	6 270 000	2 192 000
Versuch III.			Versuch IV.		
1. Tag	6 370 000	5 600 000	1. Tag	20 330 000	14 360 000
2. "	5 745 000	4 370 000	2. "	19 900 000	12 540 000
3. "	5 187 000	4 520 000	3. "	18 370 000	10 740 000
Versuch V.					
	1. Tag	5 921 000		2 600 000	
	2. "	—		6 600 000	
	3. "	—		7 100 000	

Es ergibt sich aus obigen Zahlen, daß bis zu einem Gehalt der Coli-Gelatine von etwa 4,2 Mill. pro Kubikmillimeter mikroskopisch gezählter, bzw. 2,6 Mill. kultivierbarer Bacillen bei Zimmertemperatur noch eine Vermehrung stattfindet. Diese Vermehrung bleibt aber gänzlich aus, falls schon von Anfang an eine größere Zahl lebender Coli-Bacillen (5,6 Mill. oder mehr pro Kubikmillimeter) in der Gelatine vorhanden war.

Was die Oberflächenkultur anbetrifft, sei noch erwähnt, daß nach unseren Untersuchungen bei einem Anfangsgehalt an kultivierbaren Bacillen von $\frac{1}{4}$ Mill. pro Kubikmillimeter kein sichtbares Wachstum mehr stattfand. Wahrscheinlich muß die Grenzzahl noch niedriger gestellt werden; das wurde aber nicht untersucht.

Man steht hier also vor der eigentümlichen Tatsache, daß sowohl innerhalb der Gelatine als auf deren Oberfläche kein Bakterienwachstum stattfindet, wenn die lebenden Bacillen darin in einer Anzahl frisch verteilt sind, die eine gewisse Grenze überschreitet. Wenn die lebenden Bacillen aber (durch Abtötung oder Filtrieren) aus der Gelatine entfernt sind, so kann darin bei erneuter Impfung mit einer ganz geringen Kulturmenge wiederum Vermehrung eintreten. Es wurde z. B. gefunden, daß in der nach Ablauf von Versuch II filtrierten und aufs neue geimpften Gelatine die mikroskopische Zahl nach einem Tage bei Zimmertemperatur von 2000 bis zu 80000, die kultivierbare Anzahl von 660 bis zu 27000 pro Kubikmillimeter zugenommen hatte. Eine etwa 20fache Vermehrung

also, die indes von der in frischer Gelatine vor sich gehenden bei weitem übertroffen wird.

Bei der weiteren Verfolgung unseres Gegenstandes hat sich auch die Frage erhoben, ob vielleicht ein Wachstum auf Coli-Gelatine stattfinden könnte, falls den darauf geimpften Bacillen von der anderen Seite Nahrung geboten würde. Zur Beantwortung dieser Frage sind folgende Versuche angestellt.

Zunächst wurde auf Coli-Gelatine eine Strichkultur von *B. coli* angelegt und sodann ein Teil des Striches mit einer Platte steriler Nährgelatine bedeckt.

Ein Wachstum längs des Striches war nicht zu beobachten, auch nicht in jenem Teil, wo einerseits die frische Gelatine als Nahrung geboten wurde.

Als Gegenstück diente ein Versuch, wobei eine frisch gemachte Strichimpfung auf steriler Nährgelatine teils mit einer sterilen Gelatineplatte, teils mit einer Coli-Gelatineplatte bedeckt, teils unbedeckt gelassen wurde. Das Resultat war, daß sich auf der ganzen Länge die Strichkultur entwickelte mit Ausnahme desjenigen Teiles, der von der Coli-Gelatine bedeckt war. Ja, als die letztere abgehoben und die davon bedeckt gewesene Oberfläche aufs neue geimpft wurde, erfolgte dennoch kein sichtbares Wachstum.

Diese Ergebnisse lassen sich wohl am einfachsten so deuten, daß ein entwicklungshemmender Stoff in die sterile Gelatine hinein diffundiert. Um darüber Gewißheit zu bekommen, wurde eine dritte Versuchsreihe angestellt, wobei Coli-Gallerte (Gelatine oder Agar) mit einer dünnen Schicht sterilen Nährsubstrats bedeckt und letztere nun auf die freie, also von der Unterlage abgewendete Fläche mit *B. coli* von Zeit zu Zeit geimpft wurde.

Um eine ganz dünne und dennoch gut zusammenhängende, manipulierbare Schicht zu bekommen, wurde so verfahren, daß eine sterilisierte Filtrierpapierscheibe, mit einer Anzahl runder Oeffnungen von etwa 1 cm Durchmesser versehen, in eine Petri-Schale mit geschmolzenem Agar (in dünner Schicht) gebracht und nach der Erstarrung dieses herausgenommen und auf die Coli-Gallerte gelegt wurde. Beim Herausnehmen bleibt die die Oeffnungen ausfüllende Agarschicht darin hängen, was mit Gelatine meistens nicht der Fall ist.

Auf einer der Oeffnungen wurde nun, gleich nach dem Auflegen der Papieragarplatte auf das Coli-Substrat, eine Oberflächenkultur angelegt, 24 Stunden später auf einer zweiten u. s. w. Das Resultat war, daß die erste Impfung zwar noch eine sichtbare Kultur lieferte, die aber im Vergleich mit einer Kontrollkultur bereits in Entwicklung zurückgeblieben war. Schon die zweite Impfung aber ergab kein sichtbares Wachstum mehr. Es wurde dann in der Nähe der Impfstelle vorsichtig ein wenig der Agarplatte mittelst eines feinen, ausgeglühten Skalpells aufgehoben und zur Kontrolle der Sterilität in ein Kulturröhrchen mit Nährsubstrat übergebracht. Das Ergebnis war ein negatives, es konnte mithin nicht an ein komplettes Durchwachsen der Colibacillen von unten aus durch die sterile Agarplatte als Ursache der Entwicklungshemmung gedacht werden. Es handelte sich hier also um ein diffusibles, entwicklungshemmendes Produkt der Coli-Bacillen.

Es kam nun noch darauf an, zu zeigen, daß dasselbe thermolabil war. Dazu wurde die Agarplatte $\frac{1}{2}$ Stunde auf 65° erhitzt und nun

auf eine der noch nicht benutzten Oeffnungen aufs neue geimpft. Schon am nächsten Tag (Züchtung bei 20°) war die Kultur sichtbar; die absolute Wachstumshemmung war somit durch die Erhitzung beseitigt.

Bei fortgesetzter Untersuchung stellte sich weiter heraus, daß der thermolabile, diffusible Stoff nicht nur bei in das Substrat verteilter Kultur produziert wird, sondern auch beim Oberflächenwachstum. Als Beweis dafür sei folgender Versuch erwähnt: Eine Papieragarplatte von etwa 1 mm Dicke wurde auf der einen Seite über die ganze Oberfläche mittelst eines sterilen Spatels mit Coli-Kultur bestrichen. 3 Tage später wird die Platte umgekehrt und nun an der sterilen Seite auf einer der Oeffnungen oberflächlich mit *B. coli* geimpft. Es erfolgte kein Wachstum. Darauf wird die Platte $\frac{1}{2}$ Stunde auf 65° erhitzt und wiederum geimpft; jetzt fand sichtbares Wachstum statt.

Nach den Ergebnissen dieser Versuche haben wir die Auffassung, daß es die in das Substrat verteilten lebenden Bacillen selbst sind, die, in größerer Menge vorhanden, die Vermehrung verhindern, wieder fallen lassen müssen. Die oben sub 3 gemachte Voraussetzung hat sich als die wahrscheinlichere erwiesen: es scheint sich zu handeln um einen thermolabilen, entwicklungshemmenden Stoff, der diffusibel ist, aber nicht filtrierbar, d. h. von Porzellanfilter zurückgehalten wird. Es muß weiterhin angenommen werden, daß dieser Stoff nicht nur gegen Hitze gleich so oder noch mehr empfindlich ist als die lebenden Bacillen, sondern auch gegen die Einwirkung von Aether und Schwefelammonium.

Ob Diffusionsvermögen und Nichtfiltrierbarkeit physisch miteinander in Einklang zu bringen sind, müssen wir dahingestellt sein lassen. Vielleicht darf hier auf das Beispiel des Kaseins hingewiesen werden, das augenscheinlich, wenn auch in geringem Grade, in Gelatine- und Agargallerte einzudringen vermag und nichts destoweniger die feinporösen Filterkerzen nicht passiert. Außerdem braucht die Nichtfiltrierbarkeit unseres Stoffes keine absolute zu sein; es genügt, daß — wie man solches auch bei anderen gelösten Stoffen beobachtet — ein Teil zurückgehalten wird, um unsere Befunde zu erklären.

Versuche, den entwicklungshemmenden Stoff von den Bakterien zu isolieren, boten große experimentelle Schwierigkeiten dar. Weil Filtrieren, wie gesagt, kein geeignetes Mittel ist, wurden Diffusionsversuche gemacht. Dabei stellte sich aber heraus, daß die Bacillen aus der Coli-Gelatine auf die Dauer in darüber gelagerte sterile Gelatine eindringen, sogar durch Pergamentpapier hindurch, welches als Scheidewand erprobt wurde.

Auch Versuche, die bezweckten, den hypothetischen Stoff in Bouillonkulturen nachzuweisen und durch Zentrifugieren von den Bakterien zu trennen, sind nicht von Erfolg gekrönt worden.

Es ist hier am Platze, noch über einzelne Versuche zu berichten, die angestellt wurden mit Bezug auf die Frage, ob, wenn die Bakterien in größerer Zahl im Nährsubstrat angehäuft sind, mit dem Aufhören der Vermehrung auch deren Stoffwechsel sistiert oder wenigstens auf ein Minimum herabgedrückt wird. Dazu wurde zunächst eine auf Agar gezüchtete Coli-Kultur mit 1-proz. Glykosegelatine in solcher Menge vermischt, daß eine weiße, ganz undurchsichtige Masse resultierte. Diese wurde über zwei Röhrchen verteilt und das eine Röhrchen sofort erhitzt, um die Coli-Bacillen abzutöten. Als dies nun aufs neue, jetzt aber mit

einer nur geringen Menge von Coli-Bacillen geimpft wurde, trat, wie zu erwarten, alsbald Gärung verknüpft mit saurerer Reaktion auf.

Ganz anders war das Resultat beim anderen Röhrchen, das ohne weiteres, also ohne vorherige Erhitzung u. s. w. sich selbst überlassen wurde. Gärung und Säurebildung machten sich, auch nach längerer Zeit, gar nicht bemerkbar. Bei näherer Untersuchung stellte sich indes heraus, daß die Glykose dennoch aus dem Nährboden geschwunden war. Denn, als nun dieses Röhrchen nach einiger Zeit ebenso erhitzt und dann geimpft wurde, trat auch jetzt keine sichtbare Gasbildung auf.

Genau so wie mit *B. coli* verlief der Versuch mit einer Reinkultur eines aus Preßhefe isolierten Sproßpilzes. In der damit bis zur milchweißen Trübung vermischten 1-proz. Glykosegelatine wurde keine Gärung beobachtet, auch nicht als 24 Stunden später die Mischung erhitzt und wiederum geimpft worden war.

Als aber der Versuch mit einem viel höheren Prozentsatze an Glykose wiederholt wurde, war das Ergebnis ein positives.

Der Schluß, daß mit dem Sistieren der Vermehrung auch der Stoffwechsel auf ein Minimum herabsinkt, ist nach diesen Versuchen wohl nicht zulässig. Es scheint, daß über eine große Menge von Mikroorganismen verteilte, also relativ kleine Glykosemengen zwar nicht vergoren, aber doch anderweitig verwertet, vielleicht auch in einer nicht gärungsfähigen Form aufgespeichert werden.

II. Heterantagonismus.

Als Heterantagonismus bezeichnen wir, wie gesagt, der Uebersichtigkeit wegen den entwicklungshemmenden Einfluß, den die eine Bakterienart auf die andere ausübt.

Die Untersuchungsmethode war die nämliche wie vorher, bloß mit dem Unterschiede, daß nun die Strichkultur angelegt wurde mit einer anderen Species als diejenige, die in das Substrat verteilt war.

Auch bei den diesbezüglichen Versuchen wurde gefunden, daß auf der erhitzten Bakterien-Nährgelatine-Mischung die Bakterien besser fortkommen als auf der unerhitzten. Was die letztere anbetrifft, besteht aber im Vergleich mit dem arteigenen Mikroorganismus der Unterschied, daß ein absolutes Wachstumshemmnis für die artfremden Mikroben im allgemeinen nicht gegeben ist. Schon vorher wurde erwähnt, daß unter gewissen Umständen, nämlich bei nicht ganz frischer Coli-Gallerte, diese eine gewissermaßen elektive Wachstumsbeeinflussung zeigt, insofern als der adäquate Stamm darauf absolut kein, andere Stämme aber noch ein spärliches Wachstum aufweisen. Was hier für verschiedene Stämme der Species gefunden wurde, tritt für verschiedene Species noch deutlicher an den Tag, auch bei Benutzung ganz frischer Bakterienmischung. Es gibt aber, wie unten weiter ausgeführt werden wird, sehr viele Ausnahmen und überdies besteht nicht immer eine Gegenseitigkeit in dem Sinne, daß, wenn Species a auf b wächst, umgekehrt b auch auf a fortkommen kann.

Meine Hoffnung, daß sich die Methode zur differentiellen Diagnostik der Mikroorganismen eignen würde, ist somit nur teilweise in Erfüllung gegangen.

Um ein Beispiel zu nennen, das sich auf die wichtige Frage der Determinierung des *B. typhi* bezieht, so wurde konstatiert, daß der *B. coli* im Gegensatze zu dem *B. typhi* ein sichtbares Wachstum zeigt auf Typhusgelatine. Auch neun von Král bezogenen Paratyphusstämmen

ergaben alle auf dem letzterwähnten Substrat eine deutlich sichtbare, wenn auch im allgemeinen spärliche Strichkultur. Bloß ein zehnter Paratyphusstamm, der sich freilich durch fehlendes Gärungsvermögen und sein Verhalten gegenüber Typhusserum von den anderen Stämmen unterschied und sich darin mehr dem echten *B. typhi* näherte, betrug sich, nach unserer Methode untersucht, genau so wie dieser. Auch der *B. dysenteriae* (Shiga-Kruse) wächst nicht auf Typhusgelatine.

Umgekehrt wächst der *B. typhi* wohl auf Dysenteriegelatine, nicht aber auf Colinährgallertemischung. Wie gesagt, besteht also häufig keine Gegenseitigkeit.

Es hat keinen Zweck und wäre auch untunlich, alle möglichen Kombinationen und Permutationen zwischen den unterschiedenen Bakterienarten zu studieren.

Einige der von uns untersuchten Fälle sind in nachstehender Tabelle zusammengestellt.

Mit + wird sichtbares Wachstum, mit — absolute Wachstumshemmung angedeutet
± bedeutet spärliches, zweifelhaftes Wachstum.

Strichkultur von	auf Nährgallerte, vermischt mit:							
	<i>B. coli</i>	<i>B. typhi</i>	<i>V. cholerae</i>	<i>V. Metchnikowi</i>	choleraähnlicher Wasservibrio	<i>B. pyocyaneus</i>	<i>B. prodigiosus</i>	<i>B. dysenteriae</i>
<i>B. coli</i>	—	+	—			—	—	+
<i>B. typhi</i>	—	—	—			—	—	+
<i>B. paratyphi A</i>	—	±						
<i>B. paratyphi B</i>	±	±						
<i>V. cholerae</i>	+	+	—	—	—	—	—	
<i>V. Metchnikowi</i>	+	+	±	—	—		—	
Choleraähnlicher Wasservibrio	+	+	±	±	—		—	
<i>B. pyocyaneus</i>	+ ¹⁾	+ ¹⁾	+			—	—	
<i>B. prodigiosus</i>	+	+	±				—	
<i>B. dysenteriae</i>								—

Man ersieht daraus z. B., daß *V. cholerae* auf *Coli*-Mischung wächst, nicht aber umgekehrt *B. coli* auf Choleramischung. Hierauf sowie auf die Tatsache, daß viele andere Mikroben, ebenso wie *B. coli*, auf *Coli*-Mischung nicht aufkommen, ließe sich eine Methode gründen zur Isolierung von Choleravibrionen aus Bakteriengemischen (Faeces, Wasser). In der Tat ist es mir gelungen, *V. cholerae* aus keimreichem Grabenwasser ohne Vorkultur reinzuzüchten auf *Coli*-Agar, während der Parallelversuch mit sterilem Nähragar fehlschlug.

Was weiter *V. cholerae* und choleraähnliche Vibrionen (*Metchnikowi*, *aquatilis*) anbetrifft, so hemmen diese sich wechselseitig; ein elektives Verhalten tritt nicht deutlich zu Tage.

Als Bakterien, die sehr vielseitig antagonistisch wirken, dürften *B. pyocyaneus* und *B. prodigiosus* gelten.

1) Gelatine wird nicht verflüssigt.

Schließlich möchte ich noch, als hierher gehörig, über Versuche berichten, die mit menschlichen Faeces angestellt wurden.

Der Umstand, daß Faeces sehr reich an Mikroorganismen sind, veranlaßte mich, zu untersuchen, ob sich daran eine antagonistische Wirkung gegenüber Bakterien nachweisen ließ, die durch Hitze wieder aufgehoben wurde. Der Versuch lehrte, daß dies tatsächlich der Fall ist. Es wurde geschmolzener Nähragar mit etwa einem Drittel ihres Volumens frischer Faeces innig vermischt, sodann in zwei Portionen geteilt und diese, nachdem die eine Hälfte $\frac{1}{4}$ Stunde auf 65° erhitzt worden war, in je eine Petri-Schale gegossen. Bei 20° gelassen, zeigten diese am nächsten Tage die paradoxe Erscheinung, daß in und auf dem frischen Faecesagar nur kleine Kolonien gewachsen waren, während der erhitzte Faecesagar große Kolonien aufwies, die sich auch über die Oberfläche weithin ausbreiteten. Offenbar kommt also den Faeces eine entwicklungshemmende Wirkung zu, die durch Hitze aufgehoben wird, so daß danach die am Leben gebliebenen, also gegen Wärme resistenteren Keime sich ungehindert vermehren können.

Weiterhin wurden von *V. cholerae*, *B. coli*, *B. typhi*, *B. prodigiosus* und *B. pyocyaneus* Strichkulturen auf frischem Faecesagar angelegt; bloß der letztere zeigte sichtbares, aber kein sehr kräftiges Wachstum. Auf erhitztem Faecesagar hingegen wuchsen alle ohne Ausnahme sehr üppig.

Bei einer systematischen Untersuchung, wobei Faecesagarproben während einer Viertelstunde auf verschiedene Wärmegrade von 45° , 50° u. s. w. bis 75° erhitzt wurden, ergab sich, daß der Einfluß der Wärme auf die Aufhebung der antagonistischen Wirkung der Faeces bei 50° anfängt sich bemerkbar zu machen und bei 60° schon maximal geworden ist. Daß auch hier als materielles Substrat der antagonistischen Wirkung ein thermolabiler, diffusibler Stoff angenommen werden muß, geht aus Versuchen hervor, die, gleich wie vorher für *B. coli* beschrieben wurde, in der Weise angestellt sind, daß Faecesagar mit einer dünnen Agarpapierplatte bedeckt wurde. *B. coli* und *V. cholerae*, darauf nach Verlauf von 1 Tag geimpft, kamen nicht zur Entwicklung. Dahingegen war das Resultat der Impfung positiv, als die Agardeckschicht zuvor auf 60° erhitzt worden war.

Schlußfolgerungen.

1) Es muß angenommen werden, daß die Mikroorganismen, wahrscheinlich ohne Ausnahme, in Nährgelatine und Nähragar thermolabile, wachstumshemmende Stoffe bilden, die diffusibel sind, aber Porzellanfilter nicht oder nur in geringem Maße zu passieren vermögen.

2) Diese Stoffe werden vernichtet durch Erhitzung auf Temperaturen, die auch auf die Mikroorganismen abtötend wirken, und sind ebenso wie diese empfindlich gegen gewisse chemische Agentien.

3) Die erwähnte antagonistische Wirkung ist eine elektive, nur insoweit aber, daß die arteigenen Mikroorganismen meistens stärker in ihrer Entwicklung behindert werden als andere, namentlich auch verwandte Arten. Es dürfte dieses Prinzip bei der differentiellen Diagnostik der Bakterien Verwendung finden. Indes gibt es viele Ausnahmen dazu, die darin bestehen, daß fremde Arten ebenso stark gehemmt werden als die eigene Art.

4) Coli-Agar eignet sich besonders zur Isolierung von *Vibrio cholerae* aus Bakteriengemischen (Faeces, Wasser), indem dieser Organismus darauf gut wächst, während andere Arten in ihrer Entwicklung zurückgehalten werden.

5) Auch in Faeces muß ein Stoff (bezw. müssen Stoffe), wie sub 1 erwähnt, vorhanden sein. Viele Bakterien (*B. coli*, *V. cholerae* u. a.) wachsen nicht oder nur spärlich auf Faecesagar. Diese antagonistische Wirkung der Faeces wird durch Erhitzung auf 50–60° aufgehoben.

Nachdruck verboten.

Die Bedeutung der Agglutination zur Diagnose der pathogenen und saprophytischen Streptokokken.

[Aus dem Institute zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern.
(Direktor: Prof. Tavel.)]

Von H. Fischer.

Einleitung.

Die Differenzierung der artverwandten Bakterien, die Motivierung einer systematischen Trennung pathogener von den morphologisch gleichartigen, aber nicht pathogenen Mikroorganismen ist in vieler Hinsicht eine der schwierigsten Aufgaben bakteriologischer Diagnostik. In dieser Richtung kam man einen großen Schritt vorwärts, als Gruber und Durham neben R. Pfeiffer zuerst die Agglutination als eine differentialdiagnostische Methode hinstellten und hiermit die Serumdiagnose der Bakterien einführten.

Gruber und Durham zeigten, daß man mittels eines Typhusimmunserums oder eines Choleraimmunserums Typhusbacillen bezw. Cholera vibriationen bestimmen könne, indem man diese Mikroorganismen durch das spezifische Serum in höherer Verdünnung zu agglutinieren vermag als durch normales Serum und auf diese Weise auf das Bestimmteste z. B. den Typhusbacillus vom *Bacterium coli* unterscheiden kann.

Es lag sehr nahe, diese Methode auf andere Bakterienarten anzuwenden, und es gelang auch bei einer ganzen Reihe unserer bekannten Bakterien, das Phänomen der Agglutination nachzuweisen und für die Diagnose zu verwerten.

Zu den Bakterienarten, welche durch entsprechende Sera agglutiniert werden, gehören unter anderen auch die Streptokokken.

Van der Velde hat im Jahre 1897 als erster die Agglutination der Streptokokken beschrieben. Er isolierte 21 verschiedene Streptokokkenstämme, von denen er zwei zur Immunisierung von Kaninchen auswählte. Von den mit diesen Stämmen hergestellten Seris agglutinierte jedes den homologen, aber nicht den heterologen Stamm in Verdünnungen von 1:50.

Besaude prüfte die Wirkung des Marmorekschen Serums wie auch verschiedene andere Immunsera, ferner Serum von Menschen, die an Streptokokkeninfektion erkrankt waren, auf eine Anzahl Streptokokkenstämme von verschiedener Herkunft. Er fand einmal Agglutination, konnte aber eine Gesetzmäßigkeit nicht feststellen.

Im Jahre 1899 prüfte Moser die Angaben van der Veldes und bestätigte dieselben. 1902 schreibt Moser in seinem Aufsatz: „Ueber die Behandlung des Scharlachs mit einem Scharlach-Streptokokkenserum“ folgendes: „Nach unseren Untersuchungen besteht auch kein Zweifel, daß die *Scarlatina* streptokokken sich von anderen, bei Erkrankung der Menschen, z. B. Erysipel, Phlegmone etc., gefundenen, unterscheiden. Sie sind z. B. selten pathogen für Kaninchen und dann nur in sehr großen Dosen. Nach meinen gemeinschaftlichen Untersuchungen mit Dr. Freiherrn v. Pirquet agglutiniert das therapeutisch verwendete, durch Scharlachstreptokokken gewonnene Immunserum diese Streptokokken in ganz differenter Weise wie andere Stämme. Endlich zeigen die angeführten Erfolge mit dem Immunserum beim Scharlachprozeß überzeugend die Verschiedenheit der durch die Streptokokken zu gewinnenden Schutzstoffe.“

1903 kommen Moser und v. Pirquet in ihrer Arbeit: „Zur Agglutination der Streptokokken“ zu folgendem Schlußsatze: „Streptokokken aus Scharlachblut, welche längere Zeit auf künstlichem Nährboden gezüchtet sind, werden durch ein mit solchen Streptokokken hergestelltes Immunserum, sei es mono- oder polyvalent, in der überaus größten Mehrzahl der Fälle in spezifischer Weise agglutiniert.“

In dem Bericht der Verhandlungen der 19. Versammlung der Gesellschaft für Kinderheilkunde in der Abteilung für Kinderheilkunde der 74. Versammlung der Gesellschaft Deutscher Naturforscher und Aerzte in Karlsbad 1902 heißt es: „Herr Moser und v. Pirquet, Wien, „Agglutination der Streptokokken durch Pferdesera“:

1) Normales Pferdeserum agglutiniert Streptokokkenstämme verschiedener Herkunft häufig, jedoch nur in geringen Verdünnungen (14 Stämme, 5mal Agglutination zwischen 1 : 4 und 1 : 64).

2) Serum von Pferden, welche mit verschiedenen Streptokokken immunisiert wurden, die aus dem Herzblute Scharlachkranker ohne Tierpassage gezüchtet sind, agglutiniert dieselben Streptokokkenstämme in sehr bedeutender Verdünnung (polyvalentes Serum Moser; 2 Sera, 6 Stämme, 12 Untersuchungen; 5mal Agglutination 1 : 64 000, 1mal 1 : 16 000, 3mal 1 : 4000, 2mal 1 : 1000).

3) Andere Stämme aus dem Herzblute Scharlachkranker, mit welchen nicht immunisiert wurde, werden gleichfalls hoch agglutiniert (2 Stämme, 2 Sera, 3 Untersuchungen; 1mal 1 : 250 000, 1mal 1 : 16 000, 1mal 1 : 1000; im Stamm aus dem Rachen, 2 Sera 1 : 4000, 1 : 1000).

4) Streptokokkenstämme, die von anderen Erkrankungen herrühren, werden von denselben Seris nur wenig über die Höhe des normalen Pferdeserums agglutiniert (6 Stämme, 2 Sera, 9 Untersuchungen; 4mal Agglutination zwischen 1 : 4 und 1 : 250).

5) Sera von Pferden, welche mit Streptokokken aus anderen Erkrankungen immunisiert wurden, agglutinieren die Streptokokken aus Scharlach nur im Ausmaße des normalen Pferdeserums, die homologen Stämme jedoch in verschiedener Höhe.“

Aronson bringt in seiner Arbeit „Untersuchungen über Streptokokken- und Antistreptokokkenserum“ ebenfalls Angaben über Agglutination. Derselbe hat Serum dargestellt mit Scharlachstreptokokken, die durch häufige Tierpassage (Mäuse) hochvirulent geworden waren. In seiner Arbeit heißt es: „Prüft man ein hochwertiges Serum in der oben beschriebenen Weise gegenüber anderen Streptokokkenkulturen, so findet man, daß die typische Agglutination bei allen Stämmen ein-

tritt. Es konnte auch nicht eine wesentliche Differenz der Serummenge, die für die Agglutination verschiedener Streptokokkenarten nötig war, konstatiert werden. Die morphologisch den Streptokokken nahestehenden Pneumokokken zeigen dagegen diese Agglutination niemals. Ich will besonders bemerken, daß die Bakterien der Pferdedrüse, welche Marmorek für verschieden von den anderen Stämmen hält, diese Agglutinationsreaktion in typischer Weise zeigen, auch bei Gelenkrheumatismus.“

Fr. Meyer fand im Gegensatze zu Aronson, daß nicht sämtliche Streptokokkenstämme durch das gleiche Immunserum agglutiniert werden. Er stellt in seiner Abhandlung: „Die Agglutination der Streptokokken“ folgende Fragen: 1) „Wird ein bestimmter Streptokokkenstamm durch jedes beliebige Streptokokkenserum agglutiniert?“ 2) „Bringt ein bestimmtes Serum jeden beliebigen Stamm zur Agglutination?“ Die Resultate seiner Untersuchungen faßt er in den Schlußfolgerungen zusammen: „Als Antwort auf die erste Frage ergibt sich die Tatsache, daß hinsichtlich der Agglutination zwei verschieden hergestellte Sera sich demselben Stamm gegenüber verschieden verhalten.“

„Die Antwort auf die zweite Frage wäre also ebenfalls in dem Sinne zu beantworten, daß in dieser Hinsicht zwischen den verschiedenen Stämmen sowohl absolute Unterschiede als auch unter den positiv reagierenden graduelle Differenzen existieren. Bestimmend ist hierfür, neben der Art der sie liefernden Erkrankung, vor allem die Tierspecies des erkrankten Körpers.“ Fassen wir die Schlüsse noch einmal zusammen, so ergibt sich die Tatsache:

1) „Daß die Streptokokken in gleicher Weise, wie wir es für andere Bakterien wissen, von entsprechenden Immunsera agglutiniert werden, 2) daß mittels dieses Phänomens sich bei den menschlichen Streptokokken absolute Unterschiede zwischen denen der Anginen und der pyogenen Infektionen, wie es bisher den Anschein hat, herausstellen. Unter denjenigen der ersten Art (Scarlatina, Gelenkrheumatismus, Angina simplex) ergaben sich je nach der Provenienz und der Art der Krankheit graduelle Unterschiede, Tatsachen, welche mit Sicherheit gegen die von anderer Seite behauptete Einheit der Streptokokken sprechen.“

In einer im Herbst 1903 erschienenen Arbeit von Neufeld: „Ueber Immunisation und Agglutination von Streptokokken“ zieht derselbe unter anderen folgende Schlußfolgerungen:

3) Beide Arten spezifischer Stoffe (immunisierende wie agglutinierende) sind nicht nur gegen denselben Streptococcus gerichtet, mit welchem das betreffende Tier immunisiert wurde, sondern ebensogut gegen andere Streptokokken verschiedener Herkunft.

4) Ein Beweis für die Spezifität der aus Scharlachfällen isolierten Streptokokken ist durch Immunisierungs- und Agglutinationsversuche bisher nicht erzielt worden.

Wlassjewski berichtet 1903 in einer Sitzung der bakteriologischen Sektion der kaiserl. Gesellschaft für Naturkunde in Moskau über Streptokokkenserum, mit denen die Agglutination ausgeführt wurde. Seine Resultate sind: „Das Moskauer polyvalente Heilserum agglutiniert alle diejenigen Streptokokken, welche bei der Immunisierung der Pferde verwendet wurden, wobei es auf die einen stärker agglutinierend wirkt, auf die anderen (Scharlachstreptokokken) schwächer. Bei dem Erysipel-Streptococcus trat die Agglutination nach 1 Stunde bei Zimmertemperatur bereits bei einer Verdünnung von 1 : 100 ein.“ Das Pior-

kowwskische Serum agglutiniert keinen einzigen von den von Menschen isolierten Streptokokken; den Pferdedrusen-Streptococcus hatte Wlassjewski nicht zu seiner Verfügung. Die Sera der Puerperal-kranken agglutinierten den Puerperal-Streptococcus sogar in einer Verdünnung von 1:400 nach 24 Stunden bei 37° C. Das Serum des Rheumatismuskranken war auf keinen einzigen von den Wlassjewski zur Verfügung gewesenen Streptokokken wirksam. Die Sera gesunder Menschen und Pferde wirkten agglutinierend nur bei beträchtlichen Konzentrationen 1:20 bis 1:50.

In einer Arbeit „Recherches sur la polyvalence du sérum anti-streptococcique“, die de Piassetzka 1902/03 im Institute zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern (Prof. Tavel) ausgeführt hat, heißt es: „Les sérums antistreptococciques du lapin agglutinent complètement les streptocoques homologues, tandis que les sérums hétérologues produisent rarement une action complète, plus souvent une agglutination incomplète ou nulle.“

Aus dem bisher Angeführten geht bereits deutlich hervor, wie verschieden die Ansichten der einzelnen Autoren über die Arteinheit bzw. Artverschiedenheit der Streptokokken sind. Auf der einen Seite stehen diejenigen, die die Arteinheit vollkommen oder teilweise vertreten, während auf der anderen Seite wiederum Forscher stehen, die gerade das Gegenteil behaupten.

v. Lingelsheim äußert sich in seiner Aetiologie und Therapie der Streptokokkeninfektionen wie folgt: „Das erste ist die Frage, inwieweit die zwischen verschiedenen Stämmen feststellbaren Unterschiede zur Annahme verschiedener Streptokokkenarten berechtigten und inwieweit dieselben als bloß zufälliger und vorübergehender Natur anzusehen sind. Die Ansichten haben hier, von der Entdeckung der Streptokokken an bis auf den heutigen Tag, nicht unerheblich geschwankt.

So erschienen alle Zweifel an der Gleichartigkeit wenigstens der in Bouillon lange Ketten bildenden Streptokokken beseitigt, als in neuester Zeit verschiedene bei streptokokkenimmunisierten Tieren gemachte Erfahrungen aufs neue Zweifel an der Identität erweckten. Es hat sich nämlich hierbei gezeigt, daß sowohl die aktiv wie passiv gegen Streptokokken acquirierte Immunität gegenüber langen Streptokokken verschiedener Herkunft, auch unter Voraussetzung gleicher Virulenz des Impfmateri als, einen sehr verschieden starken Schutz gewährt. Die Beobachtungen lassen auf Unterschiede auch innerhalb der Gruppe der langen Streptokokken schließen und werden vielleicht bei weiteren Untersuchungen zu einer Abgrenzung von Varietäten führen können.“

Die Ansichten Mosers und v. Pirquets wie Fr. Meyers gehen aus den bereits oben zitierten Schlußfolgerungen der betreffenden Arbeiten hervor.

Als Vertreter der Arteinheit der Streptokokken haben wir bereits Aronson kennen gelernt.

Marmorek tritt für die Arteinheit der Streptokokken ein, insoweit es sich um menschliche Streptokokken handelt.

1895 schreibt er in den Ann. de l'Institut Pasteur: „La différence d'action sur les animaux ne peut donc servir à établir des espèces variées de streptocoques; nos expériences confirment l'opinion de ceux, qui regardent toutes les affections streptococciques de l'homme comme dues à un microbe unique.“

In einer im Jahre 1902 von demselben Forscher erschienenen Arbeit:

„Die Arteinheit der für den Menschen pathogenen Streptokokken“ kommt derselbe zu einem gleichen Resultat und schließt diese Arbeit mit den Worten: „und aus diesen Gründen beharren wir noch immer auf der Arteinheit der menschlichen Streptokokken“.

Aus dem bisher Angeführten geht deutlich hervor, daß die Meinungsverschiedenheit, welche momentan noch über Arteinheit bzw. Artverschiedenheit der Streptokokken herrscht, recht groß ist. Herr Prof. Dr. Tavel veranlaßte mich daher, Versuche anzustellen, inwieweit die Agglutination im stande sei, eine Aufklärung über diesen streitigen Punkt zu geben.

In den bis jetzt erschienenen Arbeiten, welche die Agglutination bei der Diagnose der Streptokokken zu Hilfe ziehen, wurden größtenteils polyvalente Sera verwendet, oder man benutzte monovalente Sera, die hergestellt waren mittels Streptokokken, welche durch häufige Tierpassage hochvirulent geworden waren.

Zu meinen Versuchen verwandte ich monovalente Sera von Kaninchen, hergestellt mittels Streptokokken, die, mit Ausnahme des Streptococcus Marmorek, eine Tierpassage nicht erlitten hatten.

Die vorliegende Arbeit habe ich nach folgenden Gesichtspunkten geordnet:

- I. Morphologie und Biologie der Streptokokken.
- II. Auswahl der Streptokokken zur Bereitung der Sera.
- III. Immunisierung.
- IV. Agglutination.
- V. Schlußfolgerungen.

I. Morphologie und Biologie.

Zu meinen Versuchen benutzte ich 21 verschiedene Streptokokkenstämme, welche mir zum größten Teil von Herrn Prof. Tavel in lebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellt worden waren. Ich habe dieselben mit den Buchstaben des Alphabets bezeichnet und sind es nach ihrer Herkunft folgende:

- A, B, C Angina follicularis.
- D Mund-Streptococcus.
- E Empyem.
- F Erysipel.
- G Faeces eines Kindes.
- H Absceß.
- I Sputum.
- K Streptococcus Marmorek.
- L Mastitis.
- M Nabeleiterung.
- N Oberschenkelabsceß.
- O Peritonitis.
- P Puerperalexsudat.
- Q Puerperalfieber.
- R Punktionseiter.
- S Scarlatina.
- T Scarlatina angina.
- U Urin.
- V Vaccine.

Von diesen stammen folgende pathogene vom Menschen: A, B, C, E, F, H, I, L, M, N, O, P, Q, R, S, T, U.

Saprophytisch ebenfalls vom Menschen stammend sind: D, G, saprophytisch aus Vaccine isoliert.

K = Streptococcus Marmorek, durch häufige Tierpassage für Kaninchen sehr virulent.

Die Streptokokken haben mit Ausnahme von K (Marmorek) keine Tierpassage erlitten, sind vielmehr in Fleischbouillon mit 1 Proz. Pepton Witte unter Zusatz von 20 Proz. Normalferdeserum durch Ueberimpfen von 8 zu 8 Tagen gezüchtet worden, so daß dieselben keinerlei Veränderung erlitten haben.

Nach dem Wachstum in schwach alkalischer Fleischbouillon mit 1 Proz. Pepton Witte konnte man die Stämme folgendermaßen klassifizieren, wobei ich nach der Einteilung von van der Velde nachstehende Gruppen unterschieden habe.

A. Vor dem Schütteln:

I. Bouillon völlig klar abgesetzt: B, C, E, F, G, H, I, L, M, N, O, P, Q, R, S, U, V.

II. Bouillon trübe mit sehr starkem Bodensatz: K.

III. Bouillon trübe mit wenig Bodensatz: D, A, T.

B. Nach dem Schütteln:

I. Bouillon sehr trübe: B, C, D, E, H, I, K, L, M, N, O, P, R, U, V.

II. Bouillon mittelmäßig trübe: A, F, G, T.

III. Bouillon wenig trübe: Q, S.

In Bezug auf das mikroskopische Aussehen der Bouillonkulturen habe ich die Stämme nach der Beschaffenheit der einzelnen Ketten in folgende Gruppen eingeteilt.

Ia. Kokken und Diplokokken, wenig Ketten von 5—7 Gliedern; Ketten gerade: D, E, G, H, U.

Ib. Kokken und Diplokokken, wenig Ketten von 5—7 Gliedern; Ketten gekrümmt: V.

IIa. Kurze Ketten, meistens aus 5—8 Gliedern bestehend; Ketten gerade: A.

IIb. Kurze Ketten, meistens aus 5—8 Gliedern bestehend; Ketten gekrümmt: F, K.

III. Selten Kokken und Diplokokken, zahlreiche Ketten von mindestens 10 Gliedern; Ketten gerade: S, T.

IVa. Sehr lange Ketten, gekrümmt: B, C, I, L, O, P, Q, R.

IVb. Sehr lange Ketten, stark gekrümmt, Konglomerat: M, N.

Die Kettenlänge war nicht immer bei allen Stämmen konstant, so war z. B. Streptococcus I, nachdem ich denselben aus einem Absceß gezüchtet hatte, ein reiner Diplococcus. Im Laufe der Zeit traten Ketten auf, die nach 10 Monaten eine Länge von 8—10 Gliedern erreichten. Das Aussehen der Bouillon hatte damit ebenfalls eine Aenderung erlitten; während nämlich die Bouillon in der ersten Zeit gleichmäßig trübe, ohne jeglichen Bodensatz wuchs, wuchs dieselbe späterhin klar mit reichlichem Bodensatz. Ein ähnliches Verhalten konnte ich bei Streptococcus V beobachten. Das Aussehen der Agarkulturen war gleichfalls verschieden. Manche wuchsen in ganz feinen Kolonien, während andere etwas dickere Tröpfchen bildeten; ganz auffallend dicke Kolonien, die sich beim Abschwemmen sofort zu Boden setzten, zeigte Streptococcus Q.

Das Wachstum auf Agar an und für sich war auch sehr verschieden. D, G, K, T wuchsen nur sehr langsam auf Agar, dagegen wuchs K im Kondenswasser sehr gut. Die übrigen wuchsen sehr schnell und gleichmäßig auf Agar.

Gelatine wurde von keinem Stamm verflüssigt.

Die Haltbarkeit in Bouillon war bei den verschiedenen Stämmen ebenfalls eine verschiedene. Der saprophytische *Streptococcus D* starb schon nach 6—7 Tagen ab; *Streptococcus K* behielt seine Lebensfähigkeit 8—9 Tage, während die übrigen nach 12—14 Tagen noch lebensfähig waren.

Die Widerstandsfähigkeit gegenüber höheren Temperaturen war nicht bei allen Stämmen die gleiche und änderte sich sogar im Laufe der Zeit. Von den 8 Stämmen D, F, G, H, K, Q, S, V, die ich zum Immunisieren der Tiere anwandte, wurden D, F, K, Q, S, V abgetötet durch Erhitzen auf 60° während 1 Stunde. Bei G und H bedurfte es einer Temperatur von 65° und gleicher Zeitdauer. Späterhin wurden auch F und Q bei 60° nicht mehr abgetötet, sondern mußte ich zur völligen Abtötung eine Temperatur von 65° während 1½ Stunde anwenden.

II. Auswahl der Stämme zur Immunisierung.

Nachdem die verschiedenen morphologischen, biologischen und pathogenen Eigenschaften der mir zur Verfügung stehenden Streptokokken festgestellt waren, konnte ich zur Auswahl derjenigen Arten schreiten, die ich zur Immunisierung verwenden wollte.

Zunächst wählte ich diejenigen, welche von Erysipel, Scarlatina und Puerperalfieber stammten, also E, S und Q. Ferner nahm ich einen *Diplostreptococcus*, der aus einem Absceß stammte, *Streptococcus H*.

Als spezifisch saprophytische Arten benutzte ich die beiden Stämme D und V. Ferner *Streptococcus G*, isoliert aus Faeces eines Kindes, das an leichter Enteritis erkrankt war; derselbe konnte daher nicht bestimmt als saprophytisch angesehen werden. Schließlich benutzte ich noch *Streptococcus Marmorek*, der für Kaninchen hochvirulent war, indem ein Tier nach subkutaner Einverleibung von 0,5 ccm 24 Stunden alter Bouillonkultur bereits nach 1 Tage einging.

III. Immunisierung.

Um einen möglichst hohen Agglutinationstiter zu erhalten, war es zunächst erforderlich, die betreffenden Tiere so hoch wie möglich zu immunisieren. Hierzu benutzte ich Bouillonkulturen, die 4 Tage im Brutschrank gewachsen waren. Um ein reichliches Wachstum zu erzielen, wurde die schwach alkalische und 1 Proz. Pepton Witte enthaltende Bouillon mit Normalpferdeserum 1:5 versetzt. Die so erhaltenen Kulturen wurden ½, oder 1 Stunde auf 60 bzw. 65° erhitzt. Ich begann mit 0,25 ccm, welche subkutan injiziert wurden und steigerte die Dosis schnell, indem ich sie stets verdoppelte. Es zeigte sich aber bald, daß diese Art der Immunisierung nicht zum Ziele führte, da die Tiere teilweise sehr abmagerten, teilweise große Abscesse bekamen. Verschiedene Tiere gingen freilich schon nach der ersten subkutanen Einverleibung nach starkem Durchfall zu Grunde. Andere Tiere vertrugen die ersten Injektionen gut ohne Temperaturerhöhung und ohne nennenswerten Gewichtsverlust, jedoch stellten sich bei diesen nach größeren Dosen Infiltrationen ein, die Haare gingen an den betreffenden Stellen aus und schließlich gingen die Infiltrationen in käsigen Eiter über.

Bei anderen bildeten sich sofort Abscesse, teils kleinere, teils von ganz erheblicher Größe. Die Heilung größerer Abscesse war fast immer aussichtslos, indem dieselben sich immer mehr vergrößerten und besonders die tieferliegenden Gewebe in Mitleidenschaft gezogen wurden, bis das Tier schließlich einging.

Bei denjenigen Tieren, bei denen sich keine Abscesse einstellten, trat nach größeren Dosen eine starke Abmagerung ein und gingen dieselben so schließlich zu Grunde.

Da die Bouillonkulturen stets darauf geprüft wurden, ob die Streptokokken auch wirklich abgetötet waren, so muß die Wirkung, die hier eintrat, als eine allgemein toxische angesehen werden, hervorgerufen durch Giftstoffe, die von den Streptokokken in der Bouillon gebildet worden waren. Es stellte sich dabei heraus, daß die sehr virulenten Formen meistens wenig oder gar keine Giftbildung erkennen ließen, während die weniger virulenten und saprophytischen Streptokokken eine Menge Giftstoffe zu bilden scheinen, eine Tatsache, die Aronson bereits in der Berl. klin. Wochenschr. 1896. p. 717 mitteilte. v. Lingelsheim macht gleichfalls darauf aufmerksam, indem er in seiner Arbeit: „Aetiologie und Therapie der Streptokokkeninfektionen“ mitteilt, daß ein stark abgeschwächter *Streptococcus* zunächst in großen Massen (Bodensatz von 150 ccm Kultur) einem Meerschweinchen intraperitoneal injiziert wurde. Nachdem der *Streptococcus* noch zwei andere Meerschweinchen passiert hatte, wurden von ihm Kulturen angelegt und letztere nach 14 Tagen filtriert. Bei intraperitonealer Injektion wurden Kaninchen durch 2,5–10 ccm dieser Filtrate getötet. Als durch weitere Tierpassage der Stamm stark virulent wurde, erlosch die Toxinbildung in den Kulturen vollständig. Bestärkt wurde ich in dieser Annahme dadurch, daß z. B. die beiden Kaninchen, welche ich mit dem für Kaninchen hochvirulenten *Streptococcus Marmorek* behandelte, ohne jegliche Störung glatt durchimmunisiert werden konnten, während gerade die saprophytischen Arten, die der Vaccine und ein saprophytischer Mund-*Streptococcus*, schon nach Injektionen von 2–4 ccm große Abscesse hervorriefen. Ich habe verschiedene dieser Abscesse untersucht und waren dieselben vollkommen steril, was mich in der obigen Annahme nur bestärkte. Auch habe ich verschiedene Tiere, die nach rapider Abmagerung schließlich zu Grunde gingen, untersucht, ohne Streptokokken zu finden.

Ein zweiter Versuch, wobei die Dosis nur langsam gesteigert wurde, führte dann zum Ziele. Es traten freilich auch hier teilweise erhebliche Gewichtsverluste und andererseits wieder Abscesse auf, jedoch waren die Abscesse nicht so groß, daß die Tiere daran zu Grunde gingen. Dies ist wohl darauf zurückzuführen, daß die Tiere die entwickelten Giftstoffe bei der langsamen Steigerung der Dosen besser vertragen konnten. Irgend eine Norm bei der Immunisierung aufzustellen, ist ganz unmöglich, da die Tiere sich oft ein und demselben *Streptococcus* gegenüber ganz verschieden verhalten. Ich begann jedesmal gleichzeitig mit 2 Kaninchen für denselben *Streptococcus* und wählte Tiere von 2,5–3 kg Gewicht. Es kam nun vor, daß das eine Tier sehr abmagerte, während das andere gar keinen Gewichtsverlust zeigte; statt dessen traten aber bei letzterem häufig Infiltrationen und Abscesse auf, während beide bei ersterem ausblieben.

Kaninchen I Erysipel				Kaninchen II Scarlatina				Kaninchen III Puerperalfieber				Kaninchen IV Strept. Marmorek			
Datum	Gewicht Gramm	Tem- peratur Grad	Menge der Kultur in cem	Datum	Gewicht Gramm	Tem- peratur Grad	Menge der Kultur in cem	Datum	Gewicht Gramm	Tem- peratur Grad	Menge der Kultur in cem	Datum	Gewicht Gramm	Tem- peratur Grad	Menge der Kultur in cem
22. XII.	2450,0	39,6	0,25	12. V.	2340,0	39,8	0,25	6. II.	2400,0	39,3	abgetöte	19. VI.	2040,0	39,3	0,25
23. XII.	2400,0	39,1		13. V.	2260,0	39,6		8. II.	2430,0	39,2	lebende	22. VI.	1940,0	39,2	
28. XII.	2380,0	39,2		14. V.	2260,0	40,1						24. VI.	2040,0	39,3	0,5
4. I.	2310,0	39,7		15. V.	2300,0	39,9	0,5	14. II.	2480,0	39,7	0,001	30. VI.	2180,0	39,3	
8. I.	2100,0	39,6		16. V.	2300,0	39,8		16. II.	2300,0	39,3	0,002	2. VII.	2100,0	39,5	1,0
13. I.	2260,0	39,6		19. V.	2300,0	39,4	1,0	20. II.	2240,0	39,3	0,005	9. VII.	2080,0	39,4	2,0
20. I.	2250,0	39,6	0,5	22. V.	2300,0	39,7		22. II.	2220,0	39,5	0,01	15. VII.	2070,0	39,3	
23. I.	2100,0	39,5		26. V.	2140,0	39,9		25. II.	2210,0	39,5	0,02	19. VII.	2210,0	39,4	3,0
25. I.	2030,0	39,6		28. V.	2175,0	41,0		26. II.	2130,0	39,5		21. VII.	2220,0	39,4	5,0
26. I.	2100,0	39,6	1,0	29. V.	2190,0	39,9		27. II.	2100,0	39,7	0,05	27. VII.	2320,0	39,3	
1. II.	2140,0	39,7		30. V.	2210,0	39,9	2,0	29. II.	2100,0	39,7	0,01	30. VII.	2200,0	39,6	
2. II.	2200,0	39,7	2,0	5. VI.	2050,0	40,0		2. III.	2110,0	39,4	0,2	1. VIII.	2100,0	39,3	
4. II.	2100,0	40,2		6. VI.	2100,0	39,8	4,0	3. III.	2100,0	39,9		9. VIII.	2470,0	39,4	7,5
10. II.	2050,0	39,9		12. VI.	2050,0	39,8	8,0	4. III.	2100,0	39,7	0,5	29. X.	2410,0	39,3	5,0
12. II.	2150,0	39,7	4,0	13. VI.	2090,0	39,8		8. III.	2100,0	39,4	1,0	9. XI.	2400,0	39,4	
15. II.	2170,0	39,7		17. VI.	2000,0	39,5		11. III.	2080,0	39,3		12. XI.	2370,0	39,3	
19. II.	2210,0	39,7	7,0	22. VI.	1950,0	39,6		12. III.	2100,0	39,3	2,0	14. XI.	2310,0	39,3	
22. II.	2120,0	39,6		24. VI.	2020,0	39,6		13. III.	2020,0	39,2		17. XI.	2360,0	39,3	
25. II.	2180,0	39,6		27. VI.	2200,0	39,7		15. III.	2000,0	39,9		20. XI.	2360,0	39,3	
29. II.	2220,0	39,7	10,0	29. VI.	2210,0	39,7	15,0	16. III.	2050,0	39,2	4,0	24. XI.	2330,0	39,3	9,0
1. III.	2150,0	39,9		1. VII.	2080,0	39,9		17. III.	2100,0	39,4		30. XI.	2200,0	39,3	
5. III.	2180,0	39,7		5. VII.	2060,0	39,8		22. III.	2080,0	40,2		3. XII.	2300,0	39,3	
9. III.	2250,0	39,6	14,0	17. VII.	2060,0	39,8		25. III.	2100,0	39,2		7. XII.	2260,0	39,4	
11. III.	2160,0	39,5		8. VIII.	2020,0	39,8		28. III.	2100,0	39,4		12. XII.	2240,0	39,3	
13. III.	2160,0	39,7		20. VIII.	2130,0	39,8	10,0	30. III.	2100,0			21. XII.	2270,0	39,3	
17. III.	2200,0	39,7		20. IX.	2300,0	39,8	12,0			Blutentnahme		4. I.	2270,0	39,3	12,0
20. III.	2200,0	39,8		2. XI.	2370,0	39,8	12,0					14. I.	2190,0	39,3	
22. III.	2260,0	39,7		9. XI.	2500,0	39,8						20. I.	2180,0	39,3	
24. III.	2300,0	39,7		14. XI.	2500,0	39,7	14,0					1. II.	2100,0	39,5	16,0
				25. XI.	2500,0	39,8						12. II.	2170,0	39,3	
25. III.				2. XII.	2450,0	39,8						20. II.	2050,0	39,3	
				7. XII.	2510,0	39,8						27. II.	2120,0	39,3	
				12. XII.	2470,0	39,8									
				4. I.	2600,0	39,8						3. III.			
				11. I.											

Kaninchen V Abceß				Kaninchen VI Fäces				Kaninchen VII Mundstropfkotken				Kaninchen VIII Vaccine			
Datum	Gewicht Gramm	Tem- peratur Grad	Menge der Kultur in cem	Datum	Gewicht Gramm	Tem- peratur Grad	Menge der Kultur in cem	Datum	Gewicht Gramm	Tem- peratur Grad	Menge der Kultur in cem	Datum	Gewicht Gramm	Tem- peratur Grad	Menge der Kultur in cem
1. IX.	3310,0	39,6	0,25	2. XII.	2350,0	39,8	0,2	4. XI.	2850,0	39,6	0,1	4. XI.	2650,0	39,4	0,1
5. IX.	3270,0	39,3	0,5	5. XII.	2380,0	39,6	0,3	7. XI.	2860,0	39,4	0,2	6. XI.	2700,0	39,4	0,2
7. IX.	3160,0	39,4		7. XII.	2410,0	39,8		9. XI.	2900,0	39,6		9. XI.	2660,0	39,5	0,3
9. IX.	3100,0	39,5		9. XII.	2380,0	39,8	0,4	11. XI.	2890,0	39,6	0,3	12. XI.	2620,0	39,4	0,5
11. IX.	3140,0	39,6		12. XII.	2350,0	39,8	0,5	14. XI.	2800,0	39,4		14. XI.	2610,0	39,2	
14. IX.	3120,0	39,6	1,0	17. XII.	2350,0	39,8	0,75	17. XI.	2780,0	39,6	0,5	17. XI.	2570,0	39,4	0,8
20. IX.	3030,0	39,4		21. XII.	2370,0	39,8	1,0	20. XI.	2700,0	39,6		20. XI.	2540,0	39,5	
25. IX.	2920,0	39,5		4. I.	2170,0	39,8		25. XI.	2720,0	39,5		21. XI.	2560,0	39,4	1,2
1. X.	3100,0	39,6	1,5	6. I.	2100,0	39,8		28. XI.	2780,0	39,6	0,6	24. XI.	2550,0	39,2	
11. X.	3310,0	39,6	3,0	9. I.	2100,0	39,8		2. XII.	2720,0	39,6		25. XI.	2580,0	39,4	1,8
23. X.	2970,0	39,7		18. I.	2200,0	39,8	2,0	7. XII.	2750,0	39,6		29. XI.	2560,0	39,5	
29. X.	2800,0	39,6		22. I.	2170,0	39,9		9. XII.	2800,0	39,6	1,0	2. XII.	2700,0	39,4	2,4
4. XI.	2980,0	39,6	3,0	25. I.	2190,0	39,8		14. XII.	2900,0	39,8		5. XII.	2680,0	39,6	
9. XI.	2790,0	39,8		26. I.	2190,0	39,9	4,0	17. XII.	2870,0	39,7	1,5	7. XII.	2610,0	39,6	
12. XI.	2900,0	39,5	4,0	1. II.	2070,0	39,8		21. XII.	2850,0	39,6	2,0	12. XII.	2620,0	39,4	
14. XI.	2850,0	39,6		2. II.	2120,0	39,8	6,0	4. I.	2940,0	39,6		14. XII.	2620,0	39,4	
17. XI.	2850,0	39,6		6. II.	2050,0	39,9		6. I.	2920,0	39,6		17. XII.	2700,0	39,6	3,5
23. XI.	2910,0	39,6	6,0	9. II.	1980,0	39,8		20. I.	2870,0	39,8	3,0	21. XII.	2610,0	39,6	
30. XI.	2800,0	39,5		11. II.	1980,0	39,8		2. II.	2850,0	39,6		4. I.	2700,0	39,4	5,0
2. XII.	2750,0	39,6	5,0	13. II.	1980,0	39,8	9,0	15. II.	2500,0	39,9		12. I.	2590,0	39,4	8,0
7. XII.	2660,0	39,6		15. II.	1970,0	39,9		22. II.	2650,0	39,6	4,0	15. II.	2280,0	39,5	10,0
12. XII.	2660,0	39,8		18. II.	1950,0	39,9		29. II.	2480,0	39,7		25. II.	2270,0	39,4	
14. XII.	2660,0	39,6	6,0	22. II.	2020,0	39,8		4. III.	2600,0	39,6	6,0	29. II.	2170,0	39,6	
17. XII.	2700,0	39,6		24. II.	2040,0	39,8	12,0	10. III.	2510,0	39,8		4. III.	2270,0	39,5	
21. XII.	2830,0	39,6		26. II.	1980,0	40,0		12. III.	2630,0	39,6	10,0	15. III.	2170,0	39,4	12,0
4. I.	3000,0	39,6		29. II.	2070,0	39,8		15. III.	2500,0	39,9		17. III.	2200,0	39,4	
11. I.	2960,0	39,6	9,0	3. III.	2100,0	39,8	14,0	21. III.	2610,0	39,6					
14. I.	3000,0	39,7		5. III.	2000,0	39,9		26. III.	2650,0	39,6					
1. II.	2970,0	39,6		10. III.	2020,0	39,8									
3. II.	2970,0	39,6	14,0	13. III.	2100,0	39,8									
15. II.	2910,0	39,8		17. III.	2100,0	39,8									
20. II.	3000,0	39,6													
26. II.				21. III.				28. III.							

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Weitere Beiträge zur Frage des Einflusses hoher Temperaturen auf Tuberkelbacillen in der Milch.

[Mitteilung No. 14 aus dem milchwirtschaftlich-bakteriologischen Laboratorium der Aktiebolaget Separator zu Hamra, Schweden.]

Von Chr. Barthel und O. Stenström.

Vor ca. 3 Jahren veröffentlichten wir im Centralblatt für Bakteriologie. Abt. I. Bd. XXX. p. 429 eine Reihe von Experimenten über diesen Gegenstand, wobei wir als annehmbaren Erklärungsgrund zu den von verschiedenen Forschern erhaltenen, von einander so abweichenden Ergebnissen den Einfluß der öfters starken alkalischen Reaktion bei der zu derartigen Versuchen gewöhnlich herangezogenen tuberkulösen Milch hervorhoben. Es ist nämlich eine bekannte Tatsache, daß alkalische Flüssigkeiten sich durch Erhitzung schwerer sterilisieren lassen als säuerliche oder auch neutrale Flüssigkeiten. Die bei unseren Experimenten verwendete Milch, welche von einer an weit vorgeschrittener Eutertuberkulose leidenden Kuh herstammte, war ebenfalls von stark alkalischer Reaktion, und es zeigte sich bei unseren Versuchen, daß eine Erhitzung dieser Milch während 10 Minuten auf 80° nicht genügte, um die darin befindlichen Tuberkelbacillen abzutöten. Es ist aber wahr, daß diese Milch auch in ihren physikalischen Eigenschaften sehr verändert war.

Leider konnten wir bei jener Gelegenheit unsere Experimente nach dieser neuen Richtung hin nicht vollenden, weil unsere Versuchskuh zufolge des weit vorgeschrittenen Zustandes der Krankheit geschlachtet werden mußte. Wir versuchten indes die Frage weiter zu lösen, ohne Milch von tuberkulösen Eutern zu benutzen. Wir verfahren hierbei folgendermaßen:

Gewöhnliche, sterilisierte Magermilch wurde in drei Portionen zu je 100 ccm verteilt, wovon die eine mit $\frac{n}{10}$ KOH versetzt wurde, bis man eine deutliche alkalische Reaktion auf Lackmuspapier erhielt, eine andere Portion wurde mit $\frac{n}{10}$ H₂SO₄ zu deutlich saurerer Reaktion auf Lackmuspapier versetzt, während schließlich die dritte Portion unberührt gelassen wurde. 25 ccm Sputum von einem phthisischen Patienten in weit vorgeschrittenem Stadium (bacillenreiches Sputum) wurden mit 10 ccm sterilen Wassers innig gemengt. Von dieser ziemlich homogenen Mischung wurden mittelst Pipetten 10 ccm abgemessen und einer jeden der oben erwähnten Milchportionen zugesetzt. Einem Kaninchen wurden 10 ccm desselben Sputums (ungemischt) intraperitoneal eingespritzt, während einem Meerschweinchen auf ähnliche Weise 10 ccm von einer unerhitzten Mischung von neutraler Milch und Sputum injiziert wurde.

Die drei Kolben mit Milch wurden jetzt während 10 Minuten auf einem Wasserbad bei gleichzeitiger konstanter Umrührung auf 70° C erhitzt, wonach von jeder Milchprobe 10 ccm Meerschweinchen intraperitoneal injiziert wurden.

Die Resultate dieser Versuche sind aus Tabelle I ersichtlich.

Tabelle I.

Meer- schweinchen No.	Reaktion der Milch	Anzahl Tage zwischen In- jektion und Obduktion	Sektionsbefund	Kontrolltiere
I	Alkalisch	54	Getötet. Zahlreiche Tub.-Herde in Omentum, Milz, Leber, Ster-naldrüsen, Peritoneum, Lungen. Tub.-Bac. nachweisbar.	Starben beide nach einem Tag an Peritonitis.
II	Sauer	54	Getötet. Dasselbe Bild wie oben. Tub.-Bac. nachweisbar.	
III	Neutral	54	Getötet. Einige Tub.-Knötchen in Omentum und Leber. Perit. adhesiva. Tub.-Bac. nachweisbar.	

Dieser Versuch deutete also nicht nach der oben erwähnten Richtung hin, daß die Reaktion der Milch Einfluß auf den Widerstand der Tuberkelbacillen gegen Erhitzung haben sollte, aber gegen den Versuch kann selbstredend das Bedenken erhoben werden, daß es sich hier nicht um „natürlich“ tuberkulöse Milch, sondern um eine auf künstliche Weise hergestellte Mischung von tuberkulösem Material in Milch handelte.

Seitdem haben verschiedene Forscher, darunter Prof. Bang in Kopenhagen¹⁾, wieder eine Reihe von Experimenten über diese Frage publiziert, wobei er unter anderem unsere Versuche ebenfalls berührt, welche er durch eigene Experimente zu kontrollieren versucht hat. Er gelangt jedoch zur Schlußfolgerung, daß es nicht die chemische Reaktion der Milch ist, welche Bedeutung besitzt für den größeren bzw. geringeren Widerstand der Tuberkelbacillen gegen Erhitzung, sondern lediglich der physikalische Zustand der Milch während der Erhitzung. Er ist entschieden der Ansicht, daß die bei Erhitzung von tuberkulöser Milch leicht eintretende Koagulation einen isolierenden Einfluß auf die Tuberkelbacillen gegen die umgebende Wärme ausübt. Dies ist übrigens von verschiedenen Forschern betont worden. Der Versuche, welche Bang zur Stärkung dieser Auffassung anführt, scheinen uns indes zu wenige zu sein, um eine absolut sichere Entscheidung der Frage zu gestatten.

Wir haben diese Angelegenheit daher nochmals behandelt, da wir es für außerordentlich wichtig erachten, die wirkliche Ursache des erhöhten Widerstands der Tuberkelbacillen in tuberkulöser Milch, sowie auch die Ursache von den voneinander abweichenden Resultaten festzustellen. Die Festlegung dieser Ursache ist selbstredend auch von der größten Bedeutung für die praktische Milchwirtschaft, denn sie hat ja ein entscheidenden Einfluß auf die Pasteurisierungsfrage.

Es hat sich indes als sehr schwer erwiesen, eine passende Kuh mit Eutertuberkulose zu bekommen, und gelang dieses uns erst im Monat Januar dieses Jahres.

Die fragliche Kuh hatte den Vorderteil (links) des Euters bedeutend vergrößert und erhärtet. Bei Untersuchung im tierärztlichen Institut in Stockholm wurde Eutertuberkulose konstatiert. Die übrigen drei Euterteile waren äußerlich unverändert. Die Milch von dem kranken Euterteil war etwas verändert, schwach braungelb, während die Milch von den drei übrigen Teilen unverändert war. Bei der im Laboratorium zu

1) Zeitschr. f. Tiermed. Bd. VI. 1902. p. 81.

Hamra vorgenommenen mikroskopischen Untersuchung des Rahmbodensatzgemenges der zentrifugierten Milch konnten Tuberkelbacillen ausschließlich in der Milch von dem veränderten Euterteil konstatiert werden. Diese letztere Milch war ebenfalls von deutlich alkalischer Reaktion, während die übrige Milch einen normalen Säuregrad hatte.

Bei unseren Versuchen wurde gewöhnlich nur die Milch von dem tuberkulösen Euterteil benutzt, nur bei einigen speziellen Experimenten wurde sie mit Milch von den übrigen Euterteilen verdünnt.

Der Gang der Versuche war folgender: Ein gewisses Quantum Milch von dem tuberkulösen Euterteil wurde in zwei gleich große Portionen geteilt, nachdem man vorerst auf gewöhnliche Weise den Säuregrad der Milch mittels $\frac{n}{10}$ KOH und Phenolphthalein als Indikator festgestellt hatte.

In der Regel betrug der Säuregrad nur ca. die Hälfte des normalen, und ergab die Milch infolgedessen eine stark alkalische Reaktion auf Lackmuspapier¹⁾.

Die eine Hälfte des Milchquantums wurde jetzt mit soviel $\frac{n}{10}$ KOH versetzt, bis der Säuregrad = 0 wurde, während die andere Hälfte mit soviel $\frac{n}{10}$ H₂ SO₄ versetzt wurde, daß der Säuregrad der Milch normal oder möglicherweise etwas darüber wurde, so daß diese Milch auf Lackmuspapier eine schwach saure Reaktion ergab. Man hatte jetzt also einerseits eine stark alkalische und andererseits eine neutrale oder schwach saure Milch. Die alkalische Milch konnte die Erhitzung bis auf 90° und darüber erdulden, ohne ihre dünnflüssige Konsistenz zu verlieren, während die angesäuerte Milch schon bei 60° stark koagulierte. Durch Einimpfung auf Meerschweinchen mit diesen beiden während gleich langer Zeit auf dieselbe Temperatur erhitzten Milchsorten sollte man eine entscheidende Antwort auf die Frage erhalten, ob es die Alkalinität oder die Koagulation wäre, welche die Ursache des erhöhten Widerstandes der Tuberkelbacillen gegen Erhitzung ist. Die Versuchsanordnung beim Erhitzen der Milch war dieselbe wie beim vorhergehenden Versuche, d. h. 2 Wasserbäder — ein kleines, in einem sehr großen stehend — wodurch eine ziemlich konstante Temperatur in dem inneren kleineren, mit Thermometer versehenen Wasserbad erhalten wurde.

In diesem kleineren Wasserbad wurde ein ziemlich weites Proberohr aus dünnem Glas angebracht, worin die Erhitzung der Milch vorgenommen wurde.

Durch einen frei aufgehängten Thermometer, der speziell zu diesem Zwecke konstruiert war, mit Skala von 65°—100° C in $\frac{1}{10}$ Grade eingeteilt, wurde die Milch in ständiger Bewegung erhalten, ohne daß der Thermometer jedoch erhoben oder versenkt wurde. Die Menge der erhitzten Milch war 15 ccm. Sobald die Erhitzung abgeschlossen war, wurde

1) Die chemische Zusammensetzung der Milch war folgende:

Spez. Gewicht	1,021
Säuregrad (Thörner)	7
Trockenmasse	7,1 Proz.
Davon	
Fett	0,63 Proz.
Eiweiß	4,30 "
Milchzucker	0,90 "
Asche	0,78 "

Tabelle II.

Serie	Meer- schwein- chen No.	Er- hitzungs- grade °C	Dauer der Erhitzung Minuten	Reaktion der Milch	Physikalische Beschaffenheit der Milch	Zeit in Ta- gen zwi- sch. Injek. u. Obdukt.	Sektionsbefund	Kontrollmeerschwein- chen. Nicht eritzte Milch	Resultat
A.	I	80	1	Alkalisch	Dünnflüssig	49	Getötet. Gesund. Keine Tu- berkulose.	Gestorben nach 5 Tagen an Peritonitis.	}
	II	80	1	Schwach sauer	Kräftig koagu- liert	36	Gestorben. Zahlreiche ziemlich große Herde in Milz. Einige im Netz. Tuberkelbacillen nachweisbar.	Getötet nach 27 Tagen. Sehr krank. Netz eingerollt. Viele Herde i. Netz, Milz, ein Niere. Tuberkelbacill. nachweisbar.	
	III	80	5	Alkalisch	Zieml. schleimig aber nicht koag. Kräfte. koaguliert	41	Gestorben. Todesursache un- bekannt. Keine Tuberkulose.		
	IV	80	5	Schwach sauer		46	Gestorben. Zahlreiche kleine Herde in Leber, Netz, größere in nachweisbar.	Gestorben in Milz. Tuberkelbacillen nachweisbar.	
	V	85	Mo- mentan	Alkalisch	Dünnflüssig	32	Gestorben. Todesursache un- bekannt. Keine Tuberkulose.	Gestorben nach 22 Tagen. Netz eingerollt mit zahlreichen Herden; so auch in Leber und Nieren. Peritonitis tuberculo- sa. Tuberkelbac. nachweisbar.	
B.	VI	85	Mo- mentan	Schwach sauer	Kräfte. koaguliert	48	Nieren. Peritonitis tuberculo- sa. Tuberkelbac. nachweisbar.	Getötet nach 27 Tagen. Krank und sehr abgemagert. Zahl- reiche Herde in Netz, Leber, Milz, Nieren, Peritoneum, Diaphragma. Verkäste Bron- chien- und Mediastinaldrüsen.	}
	VII	85	1	Alkalisch	Dünnflüssig	32	Getötet. Krank. Einige Lymph- drüsen im Netz vergrößert. Tuberkelbacillen nicht nach- weisbar. Keine Tuberkulose.	Getötet nach 18 Tagen. Krank- hafte Herde in Netz, Leber, Milz, Nieren, Peritoneum, Diaphragma. Verkäste Bron- chien- und Mediastinaldrüsen.	
C.	VIII	85	1	Schwach sauer	Koaguliert	50	Gestorben. Zieml. große Herde in Leber. Milz, Netz, Diaphragma.	Tuberkelbac. nachweisbar.	}
	IX	80	5	Neutral (Milch verdünnt im Verh. 1:3)	Dünnflüssig	50	Getötet. Ganz gesund. Keine Tuberkulose.	Gestorben nach 21 Tagen. Zahl- reiche kleine Herde in Netz (eingerollt), Peritoneum, Milz, Nieren, Mesenterium, Tuber- kelbacillen nachweisbar.	
	X	80	5	Alkalisch (Milch ohne Zusatz)	Kräfte. koaguliert	39	Gestorben. Zahlreiche kleine Herde in Leber, größere in Tuberkelbacillen nachweisbar.	Gestorben in Netz und Milz. Tuber- kelbacillen nachweisbar.	

das Proberohr mit dieser Milch abgekühlt, wonach 8 ccm davon intra-peritoneal Meerschweinchen injiziert wurden. Außerdem wurden Kontrollmeerschweinchen beide Sorten Milch — unerhitzt — eingepflegt.

Um den etwaigen Einfluß der zugesetzten Chemikalien auf die Virulenz der Tuberkelbacillen ganz und gar zu eliminieren, wurde ebenfalls ein Versuch mit der tuberkulösen Milch ohne Zusatz von Alkali bzw. Säure gemacht (Serie C Tab. II). Diese Milch koagulierte sehr kräftig bei Erhitzung, während ein Gemenge von derselben Milch mit 3 Teilen Milch von den drei gesunden Zitzen bei Erhitzung dünnflüssig blieb. Ein Kontrollmeerschweinchen wurde mit diesem letzten Gemisch eingepflegt.

Das Resultat unserer Versuche geht aus Tab. II hervor:

Jede Serie ist ausgeführt mit Milch von einem und demselben Melken. + und — in der letzten Kolumne bedeuten, ersteres, daß die Tuberkelbacillen nach erfolgter Erhitzung fortgelebt haben, letzteres, daß sie gestorben sind.

Die Resultate sind, wie man sieht, von sehr positiver Art und besonders entscheidend. In allen Fällen, wo Koagulation in der Milch vorgekommen ist, haben die Tuberkelbacillen die Erhitzung ausgestanden, während in derselben Milch, die nicht koagulierte, durch Erhitzung die Tuberkelbacillen abgetötet wurden und zwar trotz der starken alkalischen Reaktion. Keine einzige Ausnahme von dieser Regel kommt vor. Sämtliche Kontrolltiere (bis auf das erste) haben eine hochgradige Tuberkulose bekommen, was beweist, daß die zugesetzten Chemikalien allein nicht im geringsten auf die Virulenz der Tuberkelbacillen rückgewirkt haben. Die Ursache davon, daß bei den Versuchen mit Sputum, in Milch suspendiert, alle die eingepflegten Meerschweinchen Tuberkulose bekamen, beruht auch sichtlich darauf, daß die Tuberkelbacillen, da sie in Schleim eingebettet sind, hierdurch während der Erwärmung der Milch von der Hitze isoliert werden. Die Frage kann also jetzt als endgültig entschieden betrachtet werden, und was die Pasteurisierung in der Praxis betrifft, so geht aus unseren Versuchen hervor, daß 1 Minute bei 80° genügt, um die Tuberkelbacillen in solchen Fällen abzutöten, in welchen die Koagulation nicht vorkommt, was ja im gewöhnlichen milchwirtschaftlichen Betrieb der Fall ist. Bedenkt man weiter, daß die Milch in unseren gewöhnlichen Pasteurapparaten der fraglichen Temperatur während 1½—2 Minuten ausgesetzt wird, so dürfte man wohl ohne Risiko bei 80°, wie in Dänemark jetzt geschieht, pasteurisieren können. Dahin deuten auch die von Prof. J. Svensson im Auftrage des Ministers für Landwirtschaft in der Experimentiermolkerei der Aktiebolaget Separator in Stockholm mit einem Pasteur dieser Gesellschaft ausgeführten Versuche¹⁾.

1) Landtmann. 1903.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Serumbehandlung bei Anthrax.

Zwei Fälle von Karbunkelseptikämie beim Menschen, die durch Antikarbunkelserum geheilt wurden.

Von Prof. Dr. Ivo Bandi,

Privatdozent der Hygiene und Bakteriologie an der Universität Bologna.

Um bestimmen zu können, ob eine spezifische Behandlung bei einer nicht unbedingt tödlichen Krankheit, wie z. B. beim menschlichen Karbunkel, wirklich wirksam ist, halte ich es für äußerst wichtig, die in der Praxis durchaus nicht seltenen Fälle zu beobachten, in denen die betr. Behandlung unter den schwersten Bedingungen, wo der Krankheitsprozeß sich bereits generalisiert hatte, zur Anwendung gelangt ist, und bei denen klinische Beobachtung und eingehende Untersuchungen im Laboratorium Hand in Hand gehen. Ich halte es daher für angebracht, die genaue Schilderung von zwei Karbunkel-Septikämieen beim Menschen folgen zu lassen, welche die bakteriologische Untersuchung als solche erwies, und die erfolgreich von mir mit Antikarbunkelserum in St. Paolo (Brasilien) behandelt wurden, von denen die eine, wie ich späterhin zeigen werde, von außergewöhnlicher Schwere war.

Das von mir benutzte Serum wurde von mir selbst zunächst im bakteriologischen Institut, danach im Institut Pasteur von St. Paolo bereitet. Ich möchte hier einige Worte hinsichtlich des Bereitungsmodus und der spezifischen Stärke hinzufügen und ebenso einige Regeln erwähnen, die man bei gewissen Gelegenheiten bei Injektionen am Menschen beobachten muß.

Die ersten Versuche zur Herstellung des Antikarbunkelserums wurden von mir im Februar 1902 im bakteriologischen Institut von St. Paolo in Brasilien unternommen. Ich befolgte dieselbe Methode wie bei Herstellung des Antidiphtherieserums, nämlich¹⁾: Inokulation von allmählich sich steigenden Dosen von sensibilisierten Karbunkelbacillen abwechselnd mit Injektionen von älteren Karbunkelkulturen in Bouillon, der 5 Proz. Gelee nach Sclavos Methode zugesetzt waren, um gleichzeitig beträchtliche Dosen von toxischen Produkten des Karbunkelbacillus einzuimpfen. Jeder Inokulation folgte eine solche von Antikarbunkelserum in Dosen von 10—15 ccm, so lange, bis das Tier, welches das Serum liefern sollte, eine ausgesprochene Widerstandsfähigkeit gegenüber dem Karbunkelbacillus und seinen toxischen Produkten aufwies. Zur Sensibilisierung der Keime und zur Schutzimpfung erwies sich Sclavos Serum vom größten Nutzen. Ich wählte das Schaf zur Herstellung des Serums, denn obschon es weniger widerstandsfähig als das Maultier ist, so erlaubt doch sein geringerer Wert, eine größere Zahl von Tieren gleichzeitig zu immunisieren.

Sclavo hat gezeigt, daß dies auch bei Eseln durchaus notwendig ist, da sich die Wirksamkeit des Serums von Tier zu Tier ändert. Bei fortgesetztem Immunisierungsverfahren liefern einige Individuen selbst

1) Bandi, Sulla preparazione d'un siero antidifterico bactericida — suo valore profilattico e curativo (Revista medica de San Paolo, Giugno 1902.)

Ueber die Bereitung eines antibakteriellen Diphtherieserums. Sein prophylaktischer und Heilwert. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIII. 1903. No. 7.)

A proposito del siero antidifterico bactericida et antitossico. (Il Policlinico. Sezione pratica. 1903.)

nach längerer Behandlung ein Serum fast ganz ohne spezifische Eigenschaften.

Auf die oben bezeichnete Weise erzielte ich von einem etwa 30 Kilo schweren Schafe nach sechswöchentlicher Behandlung ein Serum, das bedeutende antibakterielle und antitoxische Wirksamkeit aufwies. Zur Bestimmung seiner antibakteriellen Kraft in vitro befolgte ich die von Bordet und Gengou für die sogenannten fixateurs sensibilisatrices (Zwischenkörper) und für die spezifischen Agglutinine angegebene Methode und brachte gegebene Verdünnungen von Serum in normaler physiologischer Kochsalzlösung in Berührung mit Emulsionen, die aus Material gewonnen waren, welches ich von der Oberfläche frischer Kulturen von Karbunkelbacillen auf Agar abgekratzt und durch Papier filtriert hatte. Dies hatte ich ja schon früher mit dem Diphtherie- und Pestbacillus getan, da sie gleich dem Karbunkelbacillus massenhaft in den zu ihrer Kultur benutzten Medien gedeihen.

Das von mir hergestellte Antikarbunkelserum erreichte ein hohes Verhältnis von Antikörpern, was in vitro leicht dargetan werden konnte. Seine agglutinierende Kraft gegenüber dem Karbunkelbacillus erreichte ein Maximum von 1:40, eine hohe Ziffer, wenn wir die geringe agglutinierende Kraft und die geringen agglutinogenen Eigenschaften des Karbunkelbacillus bedenken. Das sehr wirksame Antikarbunkelserum Sclavos erreichte selten einen höheren Agglutinationswert.

Um die Schutz- und Heilkraft des in Frage stehenden Serums zu prüfen, befolgte ich die von Sclavo angenommene Methode, nämlich endovenöse Einspritzungen beim Kaninchen von 3 bis 5 ccm Serum gleichzeitig mit subkutanen Inokulationen von $\frac{1}{2}$ bis 1 ccm einer konzentrierten Emulsion von Karbunkelbacillen, die dadurch gewonnen war, daß ich die von jungen Agarkulturen abgekratzen Partien mit destilliertem Wasser verdünnte. Diese Virusmenge tötete unweigerlich die zur Kontrolle geimpften Tiere binnen 48 Stunden. Bei den verschiedenen von mir angestellten Experimenten war ich stets so glücklich, die Hälfte der geimpften Kaninchen zu retten. Die Empfänglichkeit des Kaninchens für Karbunkelinfektion ist bekanntermaßen so groß, daß dieses Ergebnis als außerordentlich gut betrachtet werden muß.

Wir besitzen keine experimentelle Methode, um genau die antitoxische Kraft des Karbunkelserums zu bestimmen, besonders weil es uns noch nicht gelungen ist, ein echtes Karbunkeltoxin zu bereiten, und weil wir noch nicht wissen, wie weit die von den Kulturen des Karbunkelbacillus hergeleiteten Produkte in Beschaffenheit und Wirkung mit den toxischen Produkten übereinstimmen, die vom Karbunkelbacillus im lebenden Organismus ausgeschieden werden. Jeder indessen, der Gelegenheit hatte, bei ausnahmsweise schweren Karbunkelfällen beim Menschen richtig bereitetes Antikarbunkelserum zur Anwendung zu bringen, kann sich leicht von dem Vorhandensein energischer Antitoxine in diesem Serum überzeugen. In schweren derartigen Fällen sind die toxischen Erscheinungen in die Augen springend, aber nach Anwendung des Serums lassen sie nach und verschwinden mit außerordentlicher Geschwindigkeit. Dies erfuhr ich in den zwei Fällen, die ich im Begriff bin zu beschreiben. Da ich eine genaue Beschreibung dieser beiden klinischen Fälle und der dabei befolgten spezifischen Behandlung, nämlich der Behandlung mit Serum, geben will, so beginne ich damit, einen bestimmten Punkt bei der Seruminjektion beim Menschen hervorzuheben. Dieser Punkt hat nur Bezug auf solche außerordentlich schwere Fälle, bei denen

große endovenöse Injektionen notwendig sind. Hier befinde ich mich vielleicht im Gegensatz zu allen denen, welche diesen Gegenstand behandelt haben. *Scavo* z. B. ist der Meinung, daß man fast ausschließlich die Wirksamkeit des inokulierten Serums in Betracht ziehen solle, welche zunächst die natürlichen Schutzmittel des Organismus energisch auf den Kampfplatz ruft. Obschon man die Wahrheit dieses Prinzips anerkennen muß, darf man doch nicht vergessen, daß bei außerordentlich schweren, in vorgeschrittenem Stadium zur Behandlung kommenden Fällen, in denen man der Reaktionsfähigkeit des Organismus nicht allzuviel mehr zutrauen darf, kein Grund vorliegt, weswegen wir eine möglichst vollständige und rasche Neutralisierung der im Kreislauf zirkulierenden Toxine nicht versuchen sollten. Die beiden von mir noch zu beschreibenden Fälle beweisen unwiderleglich die Richtigkeit dieser Theorie, und ich glaube daher berechtigt zu sein, reichliche endovenöse Einspritzungen von Antikarbunkelserum in solchen Fällen beim Menschen zu empfehlen, welche eine ausgesprochene Neigung zur Generalisation zeigen, und besonders bei solchen, bei denen Vergiftungserscheinungen auftreten, wie diffuse Oedeme, Kreislaufstörungen, Nierenaffektionen etc. Außerdem kann ich aus eigener Erfahrung bestätigen, was schon andere vor mir beobachtet haben, daß diese endovenösen Injektionen, selbst wenn man sie in großen Mengen verabfolgt, bei dem Kranken keine ernstesten Störungen hervorrufen, vorausgesetzt, daß sie sorgfältig gemacht werden. Dies ist ein Grund mehr, sie in verzweifelten Fällen anzuwenden. Die oben von mir erwähnte Einzelheit in der Injektionsmethode bezieht sich auf die großen Serumdosen, die in solchen Fällen injiziert werden müssen, denn wenn man, wie ich anfänglich, nach *Scavo* das Serum durch Zusatz von 3 Proz. Aether konservieren will, so läuft man Gefahr, mit dem Serum gleichzeitig eine beträchtliche Menge Aether in das Blut einzuführen, was doch schädlich sein könnte. Um diese Gefahr zu vermeiden, verfähre ich folgendermaßen:

Ein gewöhnliches Glasgefäß (ein Trinkglas genügt) wird zusammen mit einigen Gazestücken ausgekocht. Nach 10 Minuten ist beides sterilisiert; das Gefäß wird aus dem Wasser genommen und seine Oeffnung mit der Gaze bedeckt. Sobald das Gefäß auf 104° abgekühlt ist, wird das zur Verwendung kommende Serum auf die Gaze gegossen, sickert in das darunterstehende Gefäß und wird so von dem Niederschlag gereinigt, der immer in kleineren oder größeren Mengen darin enthalten ist (besonders wenn das Serum nicht ganz frisch bereitet ist), und der doch bei der Injektion schädlich wirken könnte. Gleichzeitig wird das Serum von dem größeren Teil des zugesetzten Aethers befreit, der sich infolge der hohen Temperatur des Glases rasch verflüchtigt, besonders, wenn das Glas während der Prozedur wiederholt geschüttelt wird. Das so gewonnene Material injizierte ich sehr langsam in die Adern des Kranken, indem ich ganz allmählich den Kolben der Spritze herunterdrückte; ich konnte in den beiden folgenden Fällen große Serummengen injizieren (150 ccm auf einmal), ohne schädliche Wirkungen hervorzurufen.

1. Fall.

Luigi Venturini, 30 Jahre alt, Rindviehhändler in St. Paolo, Brasilien.

Am 8. August 1903 11 Uhr Vorm. wurde ich vom diensttuenden Arzt D. G. Sodini zu dem Patienten gerufen, um ihn, wenn rätlich, mit Serum zu behandeln. Dr. Sodini sagte mir, daß Venturini am 4. August eine kleine geschwollene wunde juckende Stelle an der Innenfläche des mittleren Drittels des rechten Vorderarms bemerkt hatte. Da er keine Ahnung von der Schwere des Falles hatte, so machte er einfach einen Umschlag von Leinsamen um die erkrankte Stelle und schickte nicht nach dem Arzte. In

der Nacht trat jedoch Fieber auf, und da der Kranke plötzlich schlecht wurde, schickte die Familie am folgenden Morgen (5. August) nach Dr. Sodini. Dieser machte sich sogleich auf den Weg, fand den Patienten stark fiebernd (105°), sehr aufgeregt und mit schnellem, unregelmäßigem Pulse. Der rechte Vorderarm war stark ödematös, die Haut gespannt und gerötet, während sich im mittleren Drittel der Beugeseite eine Pustel erhob, deren nekrotischer Mittelpunkt von einem breiten bläulichen Hofe umgeben war. Die Kubitaldrüsen waren sehr geschwollen; in der rechten Achsenhöhe war eine nußgroße, bei Druck schmerzhaft Drüse zu sehen. Der Arzt sah, daß es sich hier um einen außerordentlich schweren Fall von Karbunkel mit der ausgesprochenen Tendenz zur Verbreitung handelte, und entschloß sich, mit zwei Kollegen über die einzuschlagende Behandlungsweise zu konsultieren.

Die konsultierenden Aerzte DD. A. Vieira de Carvalho und Pereira da Rocha bestätigten die von Dr. Sodini gestellte Diagnose und beschlossen die Thermokauterisation. Dies geschah.

Die örtliche Wirkung des Thermokauters konnte, obwohl reichlich angewandt, dem Fortschritte der Krankheit keinen Einhalt tun, und der Zustand des Kranken verschlimmerte sich so schnell, daß die drei Aerzte nach einer weiteren Konsultation am 8. August (drei Tage nach Anwendung des Thermokauters) den Fall für verzweifelt erklärten und einstimmig beschlossen, mich zu rufen, um als ultima ratio die Anwendung von Serum zu versuchen.

Als ich am 8. August um 11 Uhr Vorm. den Kranken aufsuchte, fand ich ihn in einem comaartigen Zustande. Der Puls war schnell und aussetzend, die Temperatur betrug 104°. Während der letzten 24 Stunden hatte er sehr kleine Mengen trüben Urins gelassen, der nach chemischer Untersuchung viel Eiweiß aufwies. Bei der mikroskopischen Untersuchung des Sedimentes fand sich eine beträchtliche Menge granulierter Cylinder und viele rote Blutkörperchen.

Die Untersuchung des Kranken ergab eine enorme Anschwellung des rechten Armes; das Oedem hatte sich bis zur Schulter und selbst bis an den Rand des großen Brustmuskels verbreitet. In der rechten Achselhöhle befand sich eine harte geschwollene Drüse von der Größe eines Hühnereis, die bei Berührung äußerst schmerzhaft war.

Kund um die ausgedehnte nekrotische Zone, die durch den Thermokauter und die Pustel entstanden war, waren mehrere Blasen von verschiedenem Umfange sichtbar, die mit seröser, leicht getrübbter Flüssigkeit gefüllt waren. Ich zog dieselbe mittels sterilisierter Pipetten auf und machte davon mikroskopische Präparate und Kulturen in Bouillon und Agar. Dann entnahm ich 20 ccm Blut aus der Vena mediana des linken Armes an der Ellbogenbeuge. Von einem Teile dieses Blutes machte ich mikroskopische Präparate in Bouillon und Agar; den anderen Teil defibrierte ich, um davon Flachkulturen in Gelee im Laboratorium herzustellen. Danach injizierte ich nach der oben angegebenen Methode 150 ccm Antikarbunkelserum in die Vena mediana des linken Arms. Die direkte mikroskopische Untersuchung des aus den Blasen entnommenen Exsudats zeigte den charakteristischen Karbunkelbacillus; die direkte Untersuchung des Blutes ergab einen negativen Befund.

In all den mit Agar und Brühe gefüllten Röhrchen, in welche Blut ausgesät worden war, entwickelte sich der Karbunkelbacillus; die Plattenkulturen auf Gelee ergaben zwölf typische Kolonien von *Bacillus anthracis* pro ccm.

Dieser Bacillus wurde dann mit Antikarbunkelserum sensibilisiert, welches ihn im Verhältnis von 1:30 innerhalb einer Stunde agglutinierte. Es tötete Meerschweinchen von 400–450 g in 72 Stunden unter den charakteristischen Symptomen.

Am Abend des 8. besuchte ich den Patienten wieder und fand ihn halb schlafend. Ich erfuhr, daß er etwa eine Stunde nach Inokulation des Serums einen leichten Anfall von Atemnot, schwache Delirien und einen profusen Schweißausbruch gehabt hätte. Ich erinnere mich, dieselben Symptome und besonders die starke Schweißabsonderung bei Fällen von Beulenpest im Hospital für Infektionskrankheiten in St. Paolo nach endovenösen Einspritzungen großer Mengen von Antipestserum beobachtet zu haben. Der Puls war ruhiger und regelmäßiger als am Morgen, die geschwollene Region noch hart und bei Berührung sehr schmerzhaft. Ich machte abermals eine Injektion von 50 ccm Antikarbunkelserum. Etwa zwei Stunden später stellte sich reichlicher Schweiß ein. Der Kranke verbrachte eine etwas unruhige Nacht. Die Harnabsonderung war reichlich.

9. August. Ich besuchte den Patienten ungefähr um 8 Uhr morgens, und fand ihn ganz ruhig; er hatte die ersten Morgenstunden geschlafen und sein Allgemeinbefinden hatte sich merklich gehoben. Der Puls war regelmäßig, obschon noch etwas beschleunigt, die Temperatur betrug 101°. Der während der Nacht reichlich abgesonderte Urin war klar und die Untersuchung ergab nur eine geringe Spur von Eiweiß, während die mikroskopische Prüfung des durch Zentrifugierung erhaltenen Sedimentes nur wenige granulierten Cylinder und rote Blutkörperchen aufwies. Das Oedem des Armes war be-

deutend zurückgegangen, die subaxillare Drüse war weniger geschwollen und bei Berührung kaum noch schmerzhaft. Ich hielt es für angezeigt, mit der Serumbehandlung fortzufahren, um den wunderbaren bereits erzielten Erfolg noch zu befestigen und injizierte unter die Abdominalhaut 40 ccm Antikarbunkelserum. Der Tag verging ruhig; der Kranke schlief viele Stunden und die Nieren arbeiteten unbehindert.

10. August. Ich besuchte meinen Patienten um 9 Uhr früh und fand sein Allgemeinbefinden gut. Puls normal, Temperatur 98,5. Der Urin zeigte weder Eiweiß noch Nierenelemente. Das Oedem beschränkte sich auf den Vorderarm um die durch den Thermokauter verursachte nekrotische Fläche herum; die subaxillare Drüse schmerzte nicht mehr und war nur noch nußgroß. Ich entnahm einer Ader des linken Armes 15 ccm Blut. Von einem Teil dieses Blutes machte ich Kulturen in Brühe und Agar; den anderen Teil defibrierte ich und impfte damit 3 Meerschweinchen, zwei subkutan und das dritte subperitoneal. Alle diese Proben gaben negative Resultate.

11. August. Der Patient hat eine sehr ruhige Nacht verbracht, das Allgemeinbefinden ist fortgesetzt gut, der Urin ist normal, das Oedem ist fast gänzlich verschwunden, die Drüse in der Achselhöhle kaum noch zu fühlen.

12. August. Das Befinden des Patienten konnte gar nicht besser sein; er war sehr hungrig und hatte ruhig geschlafen. Er konnte jetzt als genesen betrachtet werden und wies keine Anzeichen der schrecklichen Infektion auf, die er durchgemacht hatte, außer großer Schwäche und der durch den Thermokauter veranlaßten Wunde, deren Heilung natürlich lange Zeit in Anspruch nahm. Ich sah Venturini nach der völligen Heilung der Wunde wieder; er spürte keine weiteren Folgen seiner Krankheit.

2. Fall.

Vuoza O. — 37 Jahre alt — Fleischer in St. Paolo.

Am Abend des 2. Oktober 1903 wurde ich eilig von Dr. Buscaglia gerufen, um einen schweren Fall von Pustula maligna, den er behandelte, mit Serum zu behandeln.

Der Patient hatte an der Beugeseite des mittleren Drittels des rechten Vorderarms ein charakteristisches Karbunkelgeschwür von der Größe eines Zweicentimesstückes und von phlyktenoidem Aussehen; es war von einer breiten violetten Zone umgeben. Der ganze Vorderarm war stark geschwollen; die Kubitaldrüsen waren geschwollen und schmerzhaft; in der rechten Achselhöhle befand sich eine bei Berührung sehr schmerzhaft Drüse von der Größe eines Taubeneies. Der Allgemeinzustand des Kranken war ziemlich ernst, der Puls beschleunigt und unregelmäßig, die Temperatur betrug 103. Der Kranke war sehr unruhig und rot im Gesicht, klagte über ein Gefühl von Brennen in der Gegend des Geschwürs und über scharfe stechende Schmerzen in der rechten Achselhöhle. In den letzten 24 Stunden hatte er sehr wenig Urin gelassen; der Urin war schwach eiweißhaltig und enthielt keine Nierenelemente. Ich sammelte die eitrige seröse Flüssigkeit des Geschwürs in einer sterilisierten Pipette und entnahm 10 ccm Blut aus einer Ader des linken Armes zu meinen Untersuchungen im Laboratorium. Danach wurde das Geschwür von Dr. Buscaglia mittels des Thermokauters kauterisiert, worauf ich eine endovenöse Injektion von 30 ccm Antikarbunkelserum machte. Die bakteriologische Untersuchung im Laboratorium ergab folgendes: Die Präparate, welche von der aus der Pustel entnommenen Substanz gemacht waren, zeigten den charakteristischen Karbunkelbacillus. In den mit Blut auf Gelee gemachten Plattenkulturen traten typische Kolonien von Karbunkelbacillen mit einem Durchschnitt von 7 Kolonien pro Kubikcentimeter auf. Diese Bacillen wurden auf charakteristische Weise von Antikarbunkelserum sensibilisiert und agglutiniert; bei Injektion in Meerschweinchen zeigten sie sich virulent.

3. Oktober. Ich besuchte meinen Patienten etwa um 9 Uhr des Morgens. Während der ersten Nachtstunden war er sehr unruhig gewesen und hatte stark geschwitzt. Gegen Morgen schlief er vier Stunden fest. Allgemeinbefinden gut, Puls regelmäßig, Temperatur 98,5, mühelose Harnabsonderung. Kein Eiweiß im Urin. Die Untersuchung des Blutes ergab keine Bakterien.

Das Oedem des erkrankten Armes war bedeutend kleiner geworden, die Drüsen von fast normalem Umfange, der Umfang der subaxillaren Drüse hatte sich verringert; sie schmerzte nicht mehr bei Berührung.

Da ich eine so rasche und entscheidende Besserung erzielt hatte, hielt ich eine weitere serotherapeutische Behandlung einstweilen nicht für geboten, bis daß etwa unvorhergesehene Ereignisse sie wieder nötig machen würden.

14. Oktober. Um 8 Uhr des Morgens fand ich meinen Patienten in bester Verfassung; er hatte die Nacht gut geschlafen; das Oedem war fast vollständig vom Arm verschwunden, die Drüsen beinahe normal. Die rasche Besserung hielt an, und nach vier Tagen konnte Vuoza aufstehen und seine Arbeit wieder aufnehmen.

Eine rasche Prüfung der oben beschriebenen Fälle zeigt klar, daß sie, obwohl vereinzelt dastehend, ein stärkeres und beredteres Argument

zu Gunsten der Antikarbunkelserumtherapie bilden, als irgend eines, das man aus den ausführlichen Statistiken über einfache Karbunkelfälle ziehen könnte, die gleich anfangs mit Antikarbunkelserum unter Bedingungen behandelt wurden, welche es zweifelhaft erscheinen lassen, ob die gebräuchliche lokale Behandlung nicht allein genügt haben würde, den Fortgang der Krankheit zu hindern.

In beiden obenerwähnten Fällen bestätigten die klinische und bakteriologische Untersuchung die auf ausnahmsweise schwere Karbunkel-septikämie gestellte Diagnose. Ich bemerke ferner, daß bei beiden Fällen, besonders beim ersten, das Serum zur Verwendung kam, als ernste Anzeichen von allgemeiner Vergiftung sich hauptsächlich in dem so weit vom ursprünglichen Sitz der Infektion verbreiteten Oedem, ferner in schweren Zirkulations- und Nierenstörungen bemerkbar machten.

Uebersies zeigte sich die Wirkung des Serums in dem ersten und zweifellos schwersten Falle sofort als entscheidend, als die umfangreiche Kauterisierung des ursprünglichen Infektionsherdes sich als völlig nutzlos erwiesen hatte. Die doppelte, nämlich antibakterielle und antitoxische Wirkung des Antikarbunkelserums tritt in diesen beiden Fällen so klar zu Tage, daß sie auch die hartnäckigsten Gegner überzeugen muß. Seine bakterizide Kraft wird durch den unmittelbaren Stillstand der progressiven Invasion der Karbunkelbacillen in den Organismus bewiesen, seine antitoxische Kraft durch die plötzliche Besserung des Allgemeinbefindens der Kranken und durch die vollständige Wiederherstellung der Nierenfunktion unmittelbar nach der Anwendung. Und da wir gerade beim Kapitel der außerordentlich schweren Karbunkelfälle beim Menschen sind, so muß ich noch einmal dringend darauf hinweisen, solche Fälle energisch durch Injektion großer Mengen spezifischen Serums zu behandeln. Denn während einerseits dieser Behandlungsweise, falls sie mit Vorsicht ausgeführt wird, niemand einen gerechtfertigten Widerstand entgegensetzen kann, sind andererseits die praktischen Resultate ihrer antitoxischen Wirkung derartig, daß man eher an eine schnelle Neutralisierung der im Blute kreisenden Toxine glauben könnte als an eine stimulierende Wirkung der spezifischen im Serum und in den natürlichen Schutzkräften enthaltenen Prinzipien. Die Anwendung großer spezifischer Serummengen wird gerechtfertigt durch die Tatsache, daß richtig hergestelltes Antikarbunkelserum energische antitoxische Eigenschaften besitzt, denen wir noch mehr als seiner antibakteriellen Kraft die wunderbaren und schnellen Wirkungen bei schweren Karbunkelfällen verdanken.

Nachdruck verboten.

Die Desinfektionskraft des käuflichen Liquor cresoli saponatus.

[Aus dem hygienischen Laboratorium des kgl. württemb. Medizinalkollegiums (Med.-Rat Dr. Scheurlen).]

Von Dr. H. Uebelmesser,

Assistenzarzt im Inf.-Reg. No. 125, kommandiert zum kgl. württemb. Medizinalkollegium in Stuttgart.

Anläßlich eines Infektionsverdachtes mit Wut wurde der zur Händedesinfektion benutzte, von einer Großdrogenhandlung bezogene Liquor

cresoli saponatus des Arzneibuches auf seinen Desinfektionswert geprüft. Dabei stellte sich heraus, daß dieser Liquor sehr wenig wirksam war. In einem Vorversuche zeigte es sich, daß in 1-proz. Lösung selbst das doch verhältnismäßig leicht abzutötende *Bacterium prodigiosum* noch nach 15 Minuten langer Einwirkung nicht abgetötet war.

In der Literatur ist über Liquor cresoli saponatus nicht viel vermerkt: Es gehören hierher die Arbeiten von Fischer und Koske (1), die unter anderem die Kresolseifenlösungen untersuchten und auch die einzelnen Kresole unter sich und ihr Verhalten zur Arzneibuchprobe prüften. Von besonderem Interesse sind die Arbeiten Scheurlens (2), der das Saprol und die Saprolierung der Desinfektionsmittel, insbesondere der Kresole, behandelte. Seybold (3) verglich Metakresol (Hauff) mit verschiedenen Desinfektionsmitteln. Im übrigen liegen noch einige wenige Arbeiten über Lysol, Lysoform u. s. w. vor.

In vorliegender Arbeit gelangten zur Untersuchung Kresolseifenlösungen aus verschiedenen Apotheken und Großdrogenhandlungen. Außerdem wurde ein frisches Präparat nach den Angaben des Arzneibuches selbst dargestellt. Dabei soll bemerkt werden, daß nach unseren Erfahrungen weitaus die meisten Apotheker ihre Kresolseifenlösungen fertig beziehen und nicht selbst anfertigen.

Die Versuchsanordnung war folgende:

Als Testobjekte wurden Aufschwemmungen von *Bacterium coli* und von *Bacterium prodigiosum* benutzt. Ausgehend davon, daß Kresolseifenlösungen und Lysol im allgemeinen 1-proz. verwendet werden, wurden die ersten Versuche mit 1-proz. Lösungen angestellt. Je eine Agar- bzw. Gelatinekultur wurde mit 20 ccm steriler Kochsalzlösung (physiologischer) aufgeschwemmt. Ein Filtrieren durch Glaswolle wurde unterlassen. Von dieser Aufschwemmung wurde je 1 ccm mit 100 ccm der 1-proz. Desinfektionslösung gemischt, nach 15 Sekunden, 30 Sekunden, 1, 2, 3, 5 u. s. w. Minuten wurde je 1 Platinöse voll davon entnommen, in flüssige Gelatine verbracht und letztere zu Platten gegossen. Die Oese war für alle Versuche unverändert gelassen und faßte 0,001 ccm. Zur Kontrolle wurde je 1 Oese Desinfektionslösung und 1 Oese Aufschwemmung in eine besondere Gelatineplatte verbracht. Als Vergleichsobjekt wurde 3-proz. Karbolsäurelösung und 1-proz. Lysol-lösung verwendet. Der Einfachheit halber wurden die Kresolseifenlösungen mit fortlaufenden Buchstaben bezeichnet.

Lösung A: Kresolseifenlösung aus einem Laboratorium, bezogen von einer Großdrogenhandlung.

Lösung B: Kresolseifenlösung selbst bereitete: B/1 filtriert, B/2 nicht filtriert.

Lösung C: Kresolseifenlösung aus der Apotheke X.

Lösung D: Kresolseifenlösung aus der Apotheke Y.

Lösung E: Kresolseifenlösung aus der Großdrogenhandlung X.

Lösung F: Kresolseifenlösung aus der Großdrogenhandlung Y.

Lösung G: Lysol (Originalverpackung von Schülke und Mayr in Hamburg).

Lösung H: Kresolseifenlösung aus der Großdrogenhandlung Z (1. Lieferung).

Lösung I: Kresolseifenlösung aus der Großdrogenhandlung Z (2. Lieferung).

Lösung K: 3-proz. Karbolsäurelösung.

Lösung L: Kresolseifenlösung, die in einem auswärtigen Krankenhaus benutzt wurde.

Zu Versuch I wurde eine 3-tägige, auf schrägem Agar bei 21° C gezüchtete *Prodigiosus*-Kultur benutzt. Die Desinfektionslösungen waren 1-proz., mit Ausnahme der Lösung K (Karbolsäurelösung); letztere wurde 3-proz. angewandt. Das Ergebnis ist in nachfolgender Tabelle I festgelegt.

Tabelle I.
Versuch vom 12. Februar 1904.

Nach	Bact. prodigiosus (3-tägige Kultur)								Kontrollplatte
	15Sek.	30Sek.	1 Min.	2 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Mn.	15 Mn.	
A	4100	2960	2000	780	1255	860	480	324	6360
11 Uhr 45 Min.									
B	3820	1404	2115	1131	864	114	0	0	7800
12 Uhr 48 Min.									
C	270	10	3	0	0	0	0	0	6920
2 Uhr 00 Min.									
D	1500	2	0	0	0	0	0	0	6540
2 Uhr 30 Min.									
E	177	61	1	0	0	0	0	0	5670
2 Uhr 50 Min.									
F	1596	450	1	0	0	0	0	0	8150
3 Uhr 10 Min.									
G	3	0	0	0	0	0	0	0	7960
3 Uhr 30 Min.									
H	240	5	1	0	0	0	0	0	7200
3 Uhr 50 Min.									
I	200	22	12	1	0	0	0	0	4960
4 Uhr 35 Min.									
K	2	0	0	0	0	0	0	0	5850
5 Uhr 10 Min.									
L	2160	1740	1920	612	120	4	4	2	5400
5 Uhr 30 Min.									

Anm. Lösung K (Karbolsäure) ist 3-proz., die übrigen Lösungen 1-proz. Gezählt am 14. Februar 1904.

Der 2. Versuch wurde genau so angeordnet wie der 1. Versuch, nur daß dabei eine 24-stündige *Bact. coli*-Agarkultur verwendet wurde. Das Resultat ist aus Tabelle II (p. 472) zu ersehen.

In beiden Versuchen zeigten die einzelnen Lösungen einen großen Unterschied. Lösung A und L hatten noch nach 15 Minuten langer Einwirkung die Keime nicht vollständig abgetötet. Lösung B/2 hatte stärker desinfiziert als B/1. B/2 war eine nach Vorschrift des Arzneibuches hergestellte Kresolseifenlösung; B/1 war, entgegen der Vorschrift, bei der Bereitung noch warm filtriert worden.

Worauf beruhte nun der große Unterschied der einzelnen Kresolseifenlösungen? Doch wahrscheinlich auf einem verschiedenen Kresolgehalte. Zur Darstellung der Kresolseifenlösung schreibt das Arzneibuch für das Deutsche Reich (4. Ausgabe) vor: 1 Teil Kaliseife wird im Wasserbade geschmolzen, darauf mit 1 Teil rohen Kresols gemischt und die Mischung bis zur Lösung erwärmt; klare, gelbbraune Flüssigkeit.

Eine Prüfung der Kresolseifenlösung ist nicht vorgeschrieben, wohl aber eine solche für Cresolum crudum und für Sapo kalinus.

Tabelle II.
Versuch vom 17. Februar 1904.

Nach	Bact. coli (24-stündige Kultur)								Kontrollplatte
	15Sek.	30Sek.	1 Min.	2 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Mn.	15 Mn.	
A	1920	1070	850	640	480	455	225	120	9 000
3 Uhr 10 Min. B/2	1275	80	2	0	0	0	0	0	10 860
3 Uhr 40 Min. C	840	156	68	1	0	0	0	0	9 120
4 Uhr 00 Min. D	744	330	46	9	0	0	0	0	9 330
4 Uhr 20 Min. E	1080	270	53	3	15	0	0	0	11 420
4 Uhr 40 Min. F	976	378	320	144	80	5	0	0	5 100
5 Uhr 00 Min. G	180	15	0	0	0	0	0	0	7 200
5 Uhr 20 Min. H	1000	150	16	0	0	0	0	0	6 710
5 Uhr 50 Min. I	720	52	8	2	3	0	0	0	5 480
6 Uhr 10 Min. K	1	1	0	0	0	0	0	0	3 240
6 Uhr 30 Min. L	5520	2870	1740	910	1340	1284	1190	856	9 240
7 Uhr 15 Min.									

Anm. Lösung K (Karbolsäure) ist 3-proz., die übrigen Lösungen 1-proz. Gezählt am 19. Februar 1904.

Die desinfizierende Eigenschaft der Kresolseifenlösung beruht auf ihrem Gehalt an Kresol; die Seife dient nur dazu, das in Wasser schwer lösliche Kresol löslicher zu machen.

Jolles (7) spricht zwar auch den Seifenlösungen noch Desinfektionswert zu, es ist dies aber nicht wahrscheinlich, auch anderwärts nicht bestätigt worden.

Die Bestimmung der Kresole in Flüssigkeiten (mit Brom) ist mühsam und zeitraubend. Clessler (4) hat zur Zeit unserer Versuche eine Anzahl Kresolseifenlösungen auf ihren Kresolgehalt chemisch geprüft. Dabei fand er, daß eine, wenigstens annähernde, Wertbestimmung des Liquor cresoli saponatus möglich sei mit der Bestimmung des Gesamtvolumens der abgeschiedenen Kresole und Fettsäuren, welches er auf Grund zahlreicher Versuche auf 7—7,5 ccm aus 10 ccm des offiziellen Liquors angibt.

Clessler (4) verfährt folgendermaßen:

10 ccm des Liquors werden im graduierten Reagierrohr mit 6 ccm offizineller Salzsäure geschüttelt und bis zur völligen Abscheidung der öligen Schicht im Wasserbade erhitzt. Nach Abkühlung auf 15° C wird die abgeschiedene Flüssigkeitssäule abgelesen.

Daß dieses Verfahren bezüglich des Kresolgehaltes keine sicheren Zahlen bietet, liegt auf der Hand, dennoch ist es, wie die Versuche zeigten, geeignet, einen allgemeinen Ueberblick zu gewähren; der bakteriologische Versuch bestätigt dies.

Bei der Prüfung der einzelnen Kresolseifenlösungen nach der Clesslerschen Methode wurden nun Zahlen gefunden, die zwischen 9,5 und 3,2 sich bewegten. Dies ist schon ein Beweis dafür, wie verschieden die Zusammensetzung der Kresolseifenlösungen ist.

Tabelle III stellt schematisch die Resultate des 1. Versuches, wie wie sie in Tabelle I angegeben, zum Vergleiche mit dem relativen Kresolgehalt der einzelnen Lösungen (nach Clessler) zusammen. Die quadrierten Felder zeigen den relativen Kresolgehalt (+ Fettsäuren in je 10 ccm), die schraffierten sollen die nicht abgetöteten Keime darstellen. Die vertikalen Zahlen geben die Zeit der Einwirkung des Desinfektionsmittels in Minuten an; die Buchstaben A—L bezeichnen die oben erwähnten Lösungen; diese sind in der Reihenfolge ihres Wirkungswertes geordnet.

Tabelle III.

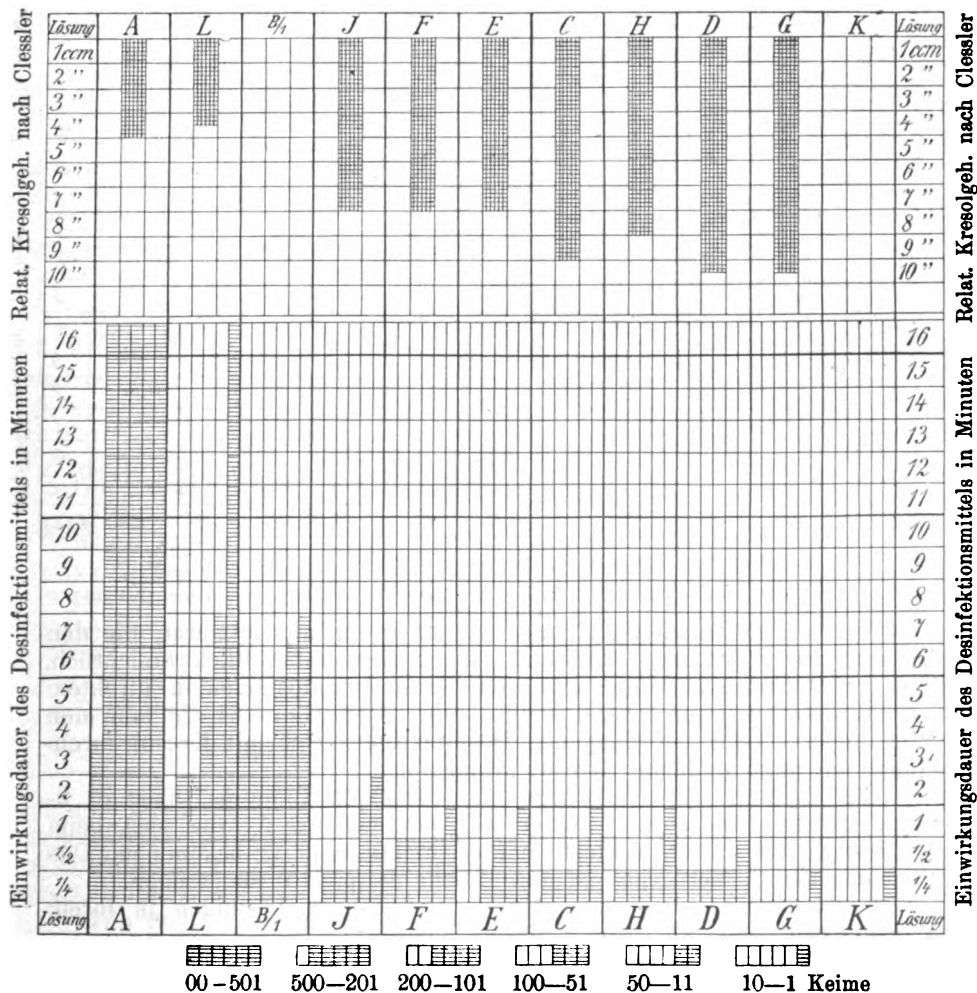
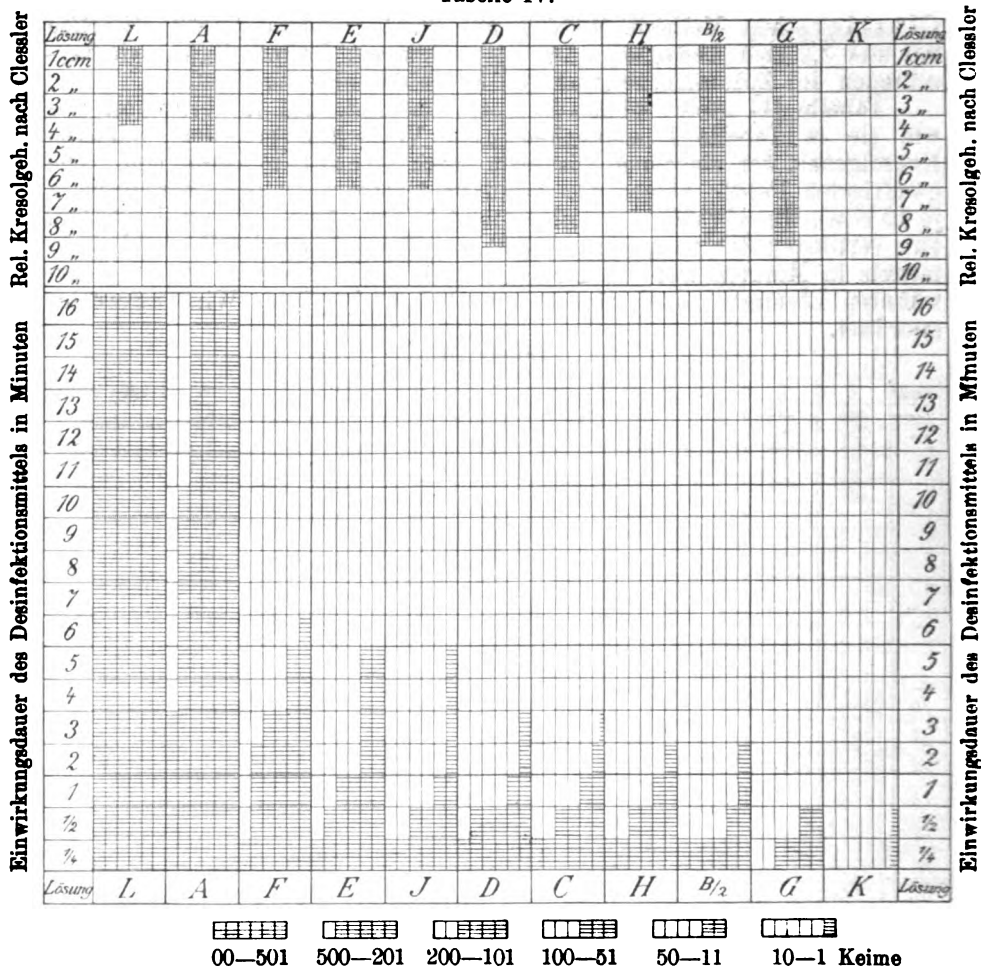


Tabelle IV ist genau so angeordnet wie Tabelle III und soll schematisch die Resultate des 2. Versuches, wie sie in Tabelle II angeführt sind, zum Ausdruck bringen.

Tabelle IV.



Aus beiden Tabellen III und IV, am besten aus letzterer, die den Versuch mit *Bact. coli* darstellt, ist auf den ersten Blick ersichtlich, daß der Wirkungswert der einzelnen Kresolseifenlösungen in direktem Verhältnisse zu ihrem Kresolgehalte steht. Auch Gruber (5) fand den Wirkungswert der verschiedenen Desinfektionsmittel mit Kresol ihrem Gehalt an ungebundenem Kresol proportional.

Ein weiterer Versuch wurde mit denselben Liquores, aber in 2-proz. Lösung, angestellt. Leider war von Lösung A, die sich beim 1. Versuche als die schlechteste erwies, nichts mehr zu bekommen. Das Ergebnis des 3. Versuches ist aus Tabelle V (p. 475) zu ersehen.

Es besteht also zwischen 1-proz. und 2-proz. Lösungen in ihrem Wirkungswert ein sehr großer Unterschied.

Zur Prüfung des Schlusses aus Tabelle III und IV, daß der Wirkungswert der Kresolseifenlösungen ihrem Gehalte an Kresol entspricht, haben wir Kresolseifenlösungen mit verschiedenem Kresolgehalt dargestellt. Diese Lösungen enthielten rohes Kresol und Kaliseife im Verhältnis von 5 : 5 (Arzneibuchvorschrift), 5 : 4, 5 : 3, 5 : 2 und 5 : 1. Die

Tabelle V.
Versuch vom 7. März 1904.

Nach	Bact. coli (20-stündige Kultur)								Kontrollplatte
	15Sek.	30Sek.	45Sek.	1 Min.	2 Min.	3 Min.	5 Min.	10 Mn.	
A	—	—	—	—	—	—	—	—	—
B	0	0	0	0	0	0	0	0	4680
C	0	0	0	0	0	0	0	0	5110
D	0	0	0	0	0	0	0	0	4830
E	2	0	0	0	0	0	0	0	6240
F	0	0	0	0	0	0	0	0	4790
G	0	0	0	0	0	0	0	0	5370
H	0	0	0	0	0	0	0	0	5610
I	0	0	0	0	0	0	0	0	8725
K	0	0	0	0	0	0	0	0	3960
L	2040	450	153	114	61	15	24	0	8040

Ann. Lösung K (Karbolsäure) 3-proz., die übrigen Lösungen 2-proz. Gezählt am 9. März 1904.

Lösungen wurden längere Zeit beobachtet; sie hielten sich klar bis auf die Lösung im Verhältnis von 5 : 1, bei der sich ein kleiner Bodensatz gebildet hatte. Auf 50 ccm einer 1-proz. Verdünnung dieser Kresol-seifenlösungen kam 1 ccm einer Bact. coli-Aufschwemmung (24-stündige Agarkultur) mit 12 140 Keimen in der Oese. Nach $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, 1 und 2 Minuten wurde je 1 Platinöse voll in eine Gelatineplatte verbracht. Tabelle VI zeigt das Resultat dieses Versuches.

Tabelle VI.
Versuch mit Kresolseifenlösungen von verschiedenem Kresolgehalte. Auf 50 ccm 1-proz. Lösung 1 ccm Bact. coli-Aufschwemmung mit 12 140 Keimen pro Oese (24-stündige Kultur). 1-proz. Lösungen.

	15 Sekunden	30 Sekunden	1 Minute	2 Minuten
5 Teile Kresol + 5 Teile Kaliseife	2540	1670	11	0
5 Teile Kresol + 4 Teile Kaliseife	2120	10	0	0
5 Teile Kresol + 3 Teile Kaliseife	25	0	0	0
5 Teile Kresol + 2 Teile Kaliseife	2	0	0	0
5 Teile Kresol + 1 Teil Kaliseife	0	0	0	0

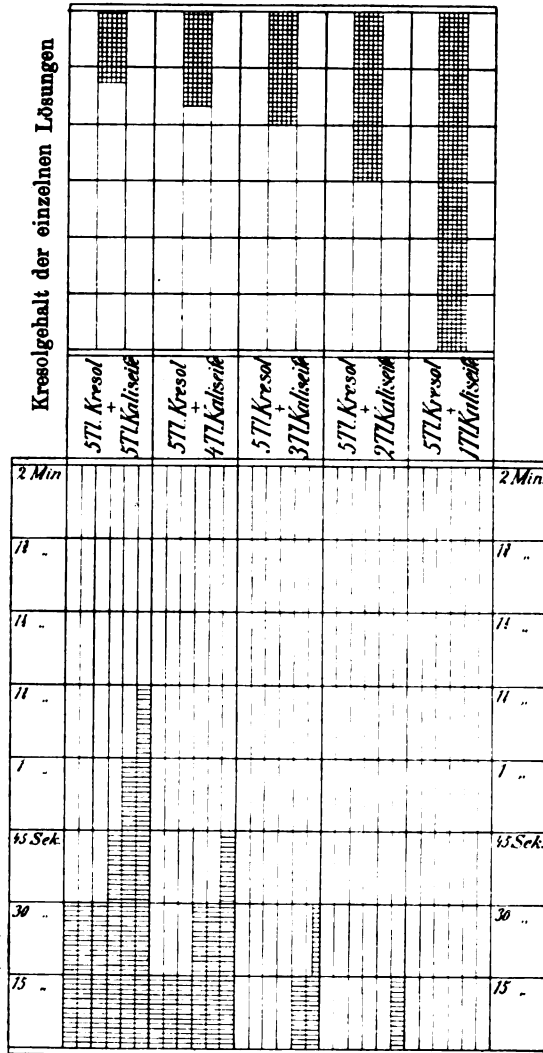
Versuch vom 25. März 1904. Gezählt am 27. März 1904.

In Tabelle VII ist, entsprechend den Tabellen III und IV, das Verhältnis der Wirkung dieser Kresolseifenlösungen zu ihrem Kresolgehalt schematisch dargestellt. Die Resultate aller 3 Versuche sind übereinstimmend: Je größer der Kresolgehalt, desto größer der Desinfektionswert.

Von den Liquores mit einem Verhältnis von 5 : 2 und 5 : 1 wurden 2-proz. Lösungen und von denen von 5 : 3 und 5 : 2 noch 3-proz. Lösungen hergestellt. Ihr Wirkungswert ist aus Tabelle VIII zu ersehen.

Bei weiteren Versuchen wurde nun an Stelle des Rohkresols, das kein ganz gleichmäßiges Präparat ist, je reines Ortho- und Metakresol

Tabelle VII.



Verhältnis des Kresolgehaltes zur Desinfektionswirkung
 Versuch vom 25. III. 04.
 Gezählt am 27. III. 04.

benutzt. Die Lösungen bestanden aus Rohkresol (zum Vergleich), Orthokresol (Nördlinger, Kahlbaum), Metakresol (Hauff) und Kaliseife; zuerst im Verhältnis von 1 : 1, sodann von 2 : 1, sie wurden 1-proz. angewandt. Die Resultate sind aus Tabelle IX zu ersehen. Dabei zeigt sich auch, daß eine Kresolseifenlösung, die aus 2 Teilen Rohkresol und 1 Teil Kaliseife besteht, einen hohen Wirkungswert schon in 1-proz. Lösung besitzt. Irgend welche Schwierigkeiten bei der Herstellung eines solchen Liquors wurden nicht gefunden.

Aus den ersten Versuchen geht deutlich hervor, daß die gewöhnlichen Kresolseifenlösungen des Handels in 1-proz. Verdünnung, wie sie häufig angewandt werden, bisweilen auch den geringsten Anforderungen

Tabelle VIII.
24-stündige Bact. coli-Aufschwemmung mit 12 140 Keimen pro Oese.
2-proz. Lösungen von:

	15 Sekunden	30 Sekunden	1 Minute	2 Minuten
5 Teile Kresol + 2 Teile Kaliseife	0	0	0	0
5 Teile Kresol + 1 Teil Kaliseife	0	0	0	0
3-proz. Lösungen von:				
5 Teile Kresol + 3 Teile Kaliseife	0	0	0	0
5 Teile Kresol + 2 Teile Kaliseife	0	0	0	0

Versuch vom 25. März 1904. Gezählt am 27. März 1904.

Tabelle IX.
Versuch vom 31. März 1904.
Aufschwemmung einer 24-stündigen Bact. coli-Kultur mit 9760 Keimen in der Oese.

		15 Sek.	30 Sek.	1 Minute	2 Minuten	
1-proz.	Kresol. crud. 1 Teil Kaliseife 1 „	186	3	0	0	
1-proz.	Orthokresol 1 Teil Kaliseife 1 „	14	2	0	0	Orthokresol Nörd- linger
1-proz.	Metakresol 1 Teil Kaliseife 1 „	3	1	0	0	Metakresol chem. rein Hauff
1-proz.	Kresol. crud. 2 Teile Kaliseife 1 Teil	0	0	0	0	
1-proz.	Orthokresol 2 Teile Kaliseife 1 Teil	0	0	0	0	Orthokresol. puriss. Kahlbaum
1-proz.	Metakresol 2 Teile Kaliseife 1 Teil	0	0	0	0	Metakresol chem. rein Hauff
2-proz.	Kresol. crud. 2 Teile Kaliseife 1 Teil	0	0	0	0	
2-proz.	Orthokresol 1 Teil Kaliseife 1 Teil	0	0	0	0	Orthokresol Nörd- linger

Gezählt am 2. April 1904.

nicht genügen. Auch Fischer und Koske (1) fanden bei einigen Kresolseifenlösungen einen wechselnden Desinfektionswert.

Das Reichsgesundheitsamt empfiehlt in den Desinfektionsvorschriften bei der Bekämpfung gemeingefährlicher Krankheiten unter anderem eine 5-roz. Kresolseifenlösung. „Zur Herstellung derselben dient die in jeder Apotheke erhältliche Kresolseifenlösung (Liquor cresoli saponatus des deutschen Arzneibuches).“ Daß mit einer 5-proz. Lösung die vegetativen Keime abgetötet werden, vorausgesetzt, daß es sich nicht um ein ganz wertloses Präparat handelt, ist zweifelsfrei; ob aber die Hände des Pflegepersonals wiederholte derartige Desinfektionen, zumal unter Anwendung der Bürste, ohne Schädigung ertragen, ist eine andere Frage. Die angestellten Versuche führten uns zu der Ueberzeugung, daß 5-proz. Kresolseifenlösung die Hände ganz erheblich angreift und daher in der

Praxis geeignet sein dürfte, zur Unterlassung der Desinfektion zu verleiten.

Wir glauben, daß an Stelle der 5-proz. Kresolseifenlösung des Arzneibuches (zur Händedesinfektion die 2-proz. Lösung gesetzt werden sollte. Will man, um allen Eventualitäten vorzubeugen, ein Desinfektionsmittel mit noch höherem Wirkungswerte, so dürfte zunächst ein Liquor in Betracht kommen, der aus 2 Teilen Kresol und 1 Teil Kaliseife besteht. Die anderwärts geäußerten Bedenken gegen ein solches Herabgehen im Prozentgehalt an Seife halten wir nicht für begründet, worauf hier jedoch nicht näher eingegangen werden soll.

Auch die mit Ortho- und Metakresol hergestellten Kresolseifenlösungen sind 2-proz. empfehlenswert. Allerdings ist der Preis ein sehr hoher, da Cresolum crudum das Kilo 0,40 M., Orthokresol 4,40 M. und Metakresol 16,50 M. kostet.

Zusammengefaßt ist das Ergebnis der angestellten Versuche:

1) Die Kresolseifenlösungen des Handels sind keine gleichmäßigen Präparate, sie sollten genauer überwacht werden; ihr Wirkungswert schwankt; er ist proportional dem Kresolgehalt.

2) Der „relative“ Kresolgehalt einer Kresolseifenlösung läßt sich nach dem Clesslerschen Verfahren in einfacher Weise annähernd bestimmen und sollte bei jedem Liquor geprüft werden.

3) 5-proz. Kresolseifenlösungen sind geeignet, die Hände anzugreifen; zur Händedesinfektion sollten daher nur 2-proz. Lösungen vorgeschrieben werden. Will man ein stärkeres Desinfektionsmittel zur Anwendung bringen, so dürfte sich am ehesten noch an Stelle des officinellen Liquor cres. sap. ein solcher empfehlen, der 2 Teile Rohkresol auf 1 Teil Kaliseife enthält.

Literaturverzeichnis.

- 1) Fischer und Koske, Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XIX. 1903. p. 577 ff.
- 2) Scheurlen, Arch. f. Hyg. Bd. XIX. 1893. Heft 4; Bd. XVIII. 1893. Heft 1.
- 3) Seybold, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIX. 1898. p. 377 ff.
- 4) Clessler, Süddeutsche Apotheker-Ztg. 1904. No. 12.
- 5) Gruber, Arch. f. Hyg. Bd. XVII. 1893. p. 620 ff.
- 6) Schütz, Hyg. Rundschau. 1896. No. 7.
- 7) Jolles, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIX. 1895. p. 130.

Nachdruck verboten.

On a vial for the culture of anaërobic bacteria on plates

By Dr. O. Berner, Larvik (Norway).

With 1 figur.

None of the vials hitherto constructed for the culture of anaërobic bacteria on plates seem to have obtained a firm footing in the bacteriologic technics. One of their shortcomings is that they cannot be sterilised.

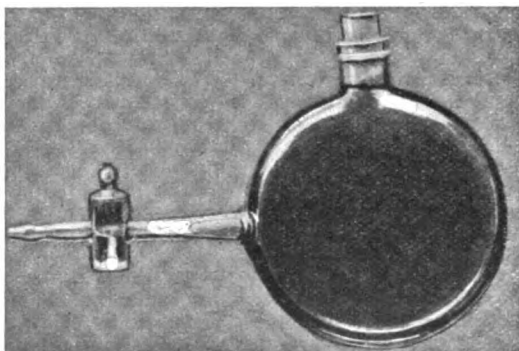
This, for instance, is the case with all the apparatus constructed on the same principle as that used by Hesse and Botkin (in their hell glasses). But the chief defect of the instruments mentioned is that

we cannot open them without destroying the anaërobic conditions. The author has in his apparatus escaped both the defects mentioned. It consists of a flat vial, the faces of which are plane parallel and to one side of which is fused on a glass cock through which are two holes (look at the figure).

If the vial is held upside down, and if hydrogen is conducted through the apparatus, while the bacteria are sown or specimens are taken out from the grown colonies, then the vial may be corked again with its caoutchouc stopple without any air having been let in.

The same applies to liquid nutritive substrata; but then the opening of the vial must point downwards so far only as to bring the surface of the liquid on a level with the neck of the vial.

To indicate the absence of oxygen methylen blue has been made use of by the author. When, for instance agar cultures are to be made, the author prepares the vial in the following manner: When the nutritive stratum has been poured into the vial, the latter is put into a saucepan filled with water and is there boiled until the blue colour begins to



disappear. Until now the neck of the vial has been closed by a tuft of cotton, but now the latter is removed and is replaced by a perforated stopple of caoutchouc provided with a short glass tube and a little caoutchouc hose. Then the hydrogen is conducted into the apparatus, and when the colour has wholly disappeared, the vial is taken out of the water and a solid caoutchouc stopple is put in the neck in the way described before, and then the glass cock is turned and the vial is put by, until the agar has stiffened. When the refrigeration is going on, there is a rather strong negative pressure in the vial, and it is therefore necessary to be careful not to let in the hydrogen too rapidly the first time the vial is made use of; otherwise there is the risk that the cotton placed in the tube between the vial and the glass cock may be blown on to the nutritive stratum. After the stiffening of the agar the water produced by the condensation may be a great inconvenience; but it is easily removed, simply by being poured out through the neck of the vial. If a dry surface of the agar is wanted, it may be desiccated with a small tuft of cotton on an iron wire.

Produced in this way vials for the culture of anaërobic bacteria on plates may always be on hand, and the trouble of preparing them may be left to the laboratory servant man. He cannot slight his work without

being betrayed by the indicator. The vial may of course be made use of for fluid nutritive substrata.

The author points out that it might possibly be an advantage if the upper half of the vial, from the cork down to the place where the glass cock is fused on, were shaped in the form of a triangle. Then all points within the vial would perhaps be more easily reached with the platine wire.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Ein-sendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Bachmann, Ernst, Beitrag zur Kenntnis des Bacillus des malignen Oedema. [Schluß.], p. 353.

Bandi, Ivo, Beitrag zur Serumbehandlung bei Anthrax, p. 464.

Barthel, Chr. und Stenström, O., Weitere Beiträge zur Frage des Einflusses hoher Temperaturen auf Tuberkelbacillen in der Milch, p. 459.

Berner, O., On a vial for the culture of anaërobic bacteria on plates, p. 478.

Ducháček, F., Neue biologisch-chemische Untersuchungen über den Bacillus typhi abdominalis und Bacterium coli commune. [Schluß.], p. 326.

Bijkman, C., Ueber thermolabile Stoffwechselprodukte als Ursache der natürlichen Wachstumshehmung der Mikroorganismen, p. 436.

Fischer, H., Die Bedeutung der Agglutination zur Diagnose der pathogenen und saprophytischen Streptokokken, p. 449.

Lüdke, H., Beiträge zur Hämolyse. [Schluß.], p. 418.

Mendes, Julio, Ueber Milzbrandantitoxin, p. 405.

Muto, T., Ein eigentümlicher Bacillus, welcher sich schneckenartig bewegende Kolonien bildet (B. helixoides), p. 321.

Oestern, Karl, Beitrag zur Kenntnis der Bakterienflora der erweichten tuberkulösen Herde des Rindes. [Forts.], p. 334.

de' Rossi, Gino, Filtrierbarkeit der Geißeln der Bakterien und ihre Funktion als freie Rezeptoren, p. 433.

Sacharoff, G., Ueber die Gewöhnung der Milzbrandbacillen an die bakterizide Wirkung des Serums, p. 411.

Sachs, Hans, Ueber den Standpunkt Bordets in der Toxinfrage, p. 398.

Selter, Ueber Sporenbildung bei Milzbrand und anderen sporenbildenden Bakterien. [Schluß.], p. 381.

Theiler, A., Beitrag zur Frage der Immunität bei Piroplasmosis des Hundes, p. 401.

Uebelmesser, H., Die Desinfektionskraft des käuflichen Liquor cresoli saponatus, p. 469.

Varaldo, Francesco, Bakteriologische Untersuchungen über Cervicitis und Endocervicitis bei Schwangerschaft. [Schluß.], p. 364.

Weil, Edmund, Ueber den Mechanismus der Bakterienagglutination durch Gelatine, p. 426.

Wolf, Alfred, Ueber Grundgesetze der Immunität, p. 390.

Zlatogoroff, S. J., Zur Morphologie und Biologie des Mikroben der Bubonenpest und des Pseudotuberkulosebacillus der Nagetiere (Bac. pseudotuberculosis rodentium Pf.), p. 345.

Nachdruck verboten.

Kapseltragende pathogene Streptokokken im Rachennasenraum.

Von Privatdozent Dr. med. et phil. **B. O. Neumann**, Hamburg.

Mit 1 Figur.

In jüngster Zeit von neuem erhobene Befunde von Streptokokken mit Kapseln veranlassen mich, in vorliegender kurzer Notiz einige Beobachtungen zur Kenntnis zu bringen, die ich zu wiederholten Malen bei der Untersuchung von Nasen- und Rachenschleim gemacht habe. Ich fand diesen Organismus bisher in 8 verschiedenen Fällen. Zum ersten Male 1896 in mehreren katarrhalischen Speichelproben, 1897 im normalen Nasensekret, 1901 in verdächtigem Diphtheriematerial, 1902 im Sputum, 1903 im Tonsillenbelag und Absceßteiler und neuerdings bei Schnupfen im Nasenschleim.

Das auffallendste Merkmal, woran der Streptococcus sofort erkannt werden kann, sind die glasigen, wassertropfchenähnlichen, hellen, durchsichtigen Kolonien auf Gelatine und Agar; ferner die wohlausgebildeten, dicken Hüllen und die ziemliche Größe der einzelnen Kokken. Die übrigen Wachstumsverhältnisse sind kurz folgende. Das mikroskopische Präparat zeigt besonders im Ausstriche, aber auch in Reinkultur, häufig 2 runde große Kokken von einer dicken Kapsel umgeben, noch häufiger allerdings liegen 4 Kokken, von einer gemeinsamen Hülle umschlossen, aneinander (Fig. 1).

Ketten sind seltener, doch kommen solche bis zu 30 Gliedern vor. Oft macht es den Eindruck, als habe man den Streptococcus lanceolatus wegen der ovaleren Form der Kokken vor sich, andererseits kann man in Organausstrichen auch einzelne Kokken, zu Häufchen vereinigt, antreffen. Manche Stämme zeigten Bilder, die an dickere Stäbchen erinnerten. Hier dürften aber nur eng aneinanderliegende Kokken im Involutionsstadium vorgelegen haben. Im ganzen schienen die aus verschiedenen Körpern isolierten Organismen zwar ein einheitliches, aber sehr schwankendes Bild zu geben, was bei der bekannten Variabilität und der verschiedenen Provenienz schließlich nicht wundernimmt.

Die Kapsel färbt sich mit Anilinfarben nicht oder nur ganz schwach. Hingegen nehmen die Kokken alle gebräuchlichen Farbstoffe leicht auf. Manche Stämme färbten sich nach Gram, manche nicht. Derartige Analoga besitzen wir bereits in einem ganz ähnlichen Mikroorganismus, dem Micrococcus intracellularis. Wiewohl z. B. die Kokken von Jäger und Weichselbaum als identisch angesehen werden müssen, nehmen die verschiedenen Stämme doch nicht alle die Gram-Färbung an. Bei malignem Oedem, den Fluorescentes, haben wir ja auch ganz ähnliche Verhältnisse.

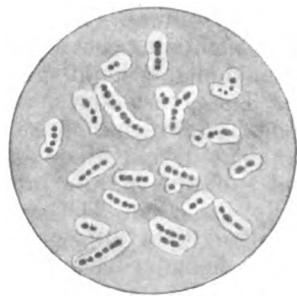


Fig. 1. Kapselstreptokokken aus Peritonealexsudat eines Meerschweinchens.

Auf gewöhnlichem Agar und gewöhnlicher Gelatine gedeihen die Kolonien ziemlich gut, ebenso auch auf Glycerin- und Zuckeragar, ungünstiger ist Loeffler-Serum. Die Kolonien sind scharf abgegrenzt, von der Größe eines Stecknadelkopfes, genau in der Art eines kleinen, glasig durchsichtigen Speicheltröpfchens. Nahe aneinander liegende Kolonien konfluieren. Schwache Vergrößerung läßt eine homogene, graue, feinste Granulierung erkennen. Der saftige, zum Teil fadenziehende Schleim trocknet nach wenigen Tagen vollständig ein, so daß nur noch eine kaum sichtbare Haut übrig bleibt. Damit ist meist auch die Uebertragbarkeit der Streptokokken vernichtet. In Bouillon entsteht eine schwache Trübung ohne merklichen Bodensatz. Auf Kartoffel ist das Wachstum bei einigen Stämmen minimal, bei anderen entwickelte sich ein schleimiger Belag, ähnlich der Kultur von *Bact. mucosum*. Milch wird meist nach mehreren Tagen koaguliert, ein späteres Peptonisieren des Coagulums tritt nur selten auf. Gasbildung, Schwefelwasserstoff- und Indolbildung wurden nicht beobachtet. Gelatine wird nicht verflüssigt.

Der Organismus gedeiht anaërob mindestens ebenso gut wie aërob. Aus dem kräftig gewachsenen Stichkanal läßt sich das Material länger fortzüchten als aus oberflächlichen Plattenkolonien. Länger als 2 Monate konnte ich aber keine Kultur erhalten. Die verschiedenen Stämme waren pathogen für weiße Mäuse, Meerschweinchen, Ratten und Kaninchen, und zwar gleichgültig, ob subkutane oder intraperitoneale Infektion gewählt wurde. Der Tod trat im allgemeinen nach 2—4 Tagen ein, je nachdem man größere oder kleinere Mengen Material verwandte. Es genügen aber schon die allerkleinsten Quantitäten — Bruchteile von Milligrammen — um den Tod herbeizuführen. Die Krankheitserscheinungen sind im allgemeinen wenig charakteristisch; die Tiere verhalten sich ganz ruhig und nehmen 12—20 Stunden vor dem Tode nichts mehr zu sich; Mäuse zeigten in 3 Fällen verklebte Augen. Der pathologische Befund ist insofern interessant, als sowohl bei subkutaner und intraperitonealer Injektion eine hochgradige Peritonitis bei allen Tieren auftritt. Die inneren Organe sind mehr oder weniger dicht mit schmierigem Fibringerinnsel bedeckt. In der Bauchhöhle befindet sich gewöhnlich ein trübes, fadenziehendes Exsudat mit einer Fülle von Kapselstreptokokken, welche die merkwürdigsten Involutionenformen aufweisen können. Ähnlich wie bei Diphtherie entwickelt sich an der Injektionsstelle ein sulziges Oedem mit reichlichen Mengen Streptokokken.

In der Literatur fanden sich Angaben, aus denen geschlossen werden muß, daß ähnliche Streptokokken wohl schon vorgelegen haben. In ihrem morphologischen, biologischen und pathogenen Verhalten stimmten sie freilich alle mit den meinigen nicht ganz überein.

Am nächsten verwandt scheint der von Seitz (1) im Munde und Auswurfe gefundene *Streptococcus aggregatus* zu sein. Seine Kolonien nehmen aber beim Eintrocknen eine weiße Farbe an und sind wabenförmig. Pathogenität ist nur in sehr geringem Maße vorhanden. Ähnlich verhalten sich die von mehreren Autoren bei Scharlach gefundenen Streptokokken. Hlava (21), welcher systematisch danach suchte, fand sie in ca. 20 Fällen von Scharlach, aber auch bei Diphtherie, Angina, Coryza und in der gesunden Mundhöhle. Wegen der auffällig üppigen, himbeerartigen Schleimhüllenbildung auf zuckerhaltigen Nährböden rechnete Hlava die Organismen zum *Leuconostoc* und

bezeichnete sie als eigene Art mit „*Leuconostoc hominis*“. Beim Ueberimpfen derselben auf Traubenzuckernährboden und gewöhnlichen Agar sollen sich auch tautröpfchenartige Kolonien gebildet haben wie in meinen Fällen; die Hülle ging in einigen Fällen verloren. Die Pathogenität war freilich auch nur minimal.

Der von Binaghi (6) beschriebene *Streptococcus capsulatus* bildet auf Agar ebenfalls äußerst durchsichtige Tröpfchen, auf Gelatine und anderen Nährböden soll aber keine Entwicklung stattgefunden haben. Subkutane Infektion bei Meerschweinchen hatte auch ein gallertartiges, hämorrhagisches Oedem an der Impfstelle und Vergrößerung der Milz, Leber und Niere zur Folge. Die Virulenz muß bei diesem Organismus aber ebenfalls auch sehr bald abgenommen haben, da Meerschweinchen bei Einimpfung von Reinkulturen aus den Organen des künstlich infizierten Tieres nicht mehr starben.

Weiterhin wäre noch zu nennen der für Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen pathogene *Streptococcus pseudopyogenes* von Besser (10) mit färbbarer Kapsel, aber ohne Kartoffelwachstum, und der von Kurth (2) fälschlich als Erreger der Maul- und Klauenseuche angesehene *Streptococcus involutus*, welchen Sanfelice (4) und wohl auch Behla (11) auch bei gesunden Tieren fanden. Er ist dem *Streptococcus pyogenes* sehr ähnlich, seine Kolonien zeigen aber auf flüssigem Blutserum hellgelbe, wachsartige Beschaffenheit.

Endlich beschreibt Schütz (7) einen bei der Brustseuche der Pferde gezüchteten pathogenen *Streptococcus*, der öfter Kapseln und auf Agar und Gelatine durchsichtige Tröpfchen zeigte, aber nicht auf Serum weiter gedieh. Vielleicht gehörte auch der *Streptococcus* von Sand und Jensen (8) hierher, den die Autoren bei der Druse der Pferde fanden. Die Kolonien des letzteren werden „erst recht sichtbar, wenn man das Glas schräg in die Höhe hält“.

Ueberblicken wir die hier kurz skizzierten Streptokokken, so scheinen ganz verschiedene Arten vorzuliegen, und doch geht aus den zum Teil recht ausführlichen Beschreibungen hervor, daß sie sich infolge der Variabilität jeder einzelnen Art doch wieder in vielen Punkten berühren. Bald sind es die biologischen, bald die pathogenen Verhältnisse, die Verschiedenheiten aufweisen und damit ganz und gar die wechselnden Eigenschaften zeigen, wie wir sie bei den verschiedenen *Streptococcus pyogenes*-Stämmen antreffen. Ein scheinbar großer Unterschied zwischen den oben erwähnten und den von Doernburger (12), Veillon (13), Herzberg (14), Biondi (15), Netter (16), Kurth (3), Podbielsky (17) und Hilbert (18) beschriebenen pathogenen und nicht pathogenen Streptokokken aus dem Rachen scheint nur in dem Vorhandensein der Kapsel zu bestehen. Allein auch diese Größe ist variabel. Denn ebenso wie z. B. vom *Streptococcus mesenteroides*, dem Froschlaichpilz, eine Form *Var. nuda* bekannt geworden ist und bei Hlava (21) durch Züchtung seines Hüllen-*Streptococcus* auf zuckerfreiem Nährboden die Gallerthülle verloren gehen konnte, so können auch die übrigen Kapselstreptokokken ihre Kapsel unter bestimmten Bedingungen angenommen haben und aus gewöhnlichen Streptokokken entstanden sein.

Inwieweit die Kapselstreptokokken in unseren Fällen an den pathologischen Prozessen mitbeteiligt gewesen sind oder ob sie vielleicht gar die Urheber derselben waren, ist nicht leicht zu beantworten. Möglicherweise spielten sie nur bei der Bildung des Abszesseiters und in

diphtherieverdächtigem Material eine Rolle trotz der hohen Tierpathogenität aller isolierten Stämme. Daß sie, ähnlich wie die gewöhnlichen Streptokokken, häufiger bei Mischinfektion beteiligt sind, ist anzunehmen. Als Beweis dafür könnte der vielfach von Hlava erhobene Befund bei Scharlach und bei anderen exanthematischen Krankheiten gelten. Gleichwohl finden sie sich offenbar auch in normalen Sekreten, ohne daß ihre Pathogenität vorerst zur Wirkung käme.

Ich möchte deshalb glauben, daß den pathogenen Kapselstreptokokken keine andere Bedeutung zukommt als den hüllenlosen Schwesterstreptokokken und dieselben nur als Varietäten der letzteren aufzufassen sind, ganz ähnlich wie auch der *Streptococcus lanceolatus* seine unbescheidete Form in der Reinkultur aufweist und das *Bact. pneumoniae* Friedl. nur als eine mit einer Kapsel begabte veränderte Form des nahestehenden *Bact. coli* aufgefaßt werden kann. Der Standpunkt von Veillon, der noch die gewöhnlichen Streptokokken im Speichel und im Eiter für ganz verschiedene Arten hält, ist wohl kaum noch nach unseren jetzigen Anschauungen aufrecht zu erhalten und ist von uns (19) bereits gekennzeichnet worden. Auch Lubarsch (9) vertritt die sicher richtige Anschauung, daß alle Streptokokken, auch die Kapselstreptokokken und Diplokokken, von einem gemeinsamen Streptococcus abstammen und unter geeigneten Bedingungen wieder zu diesem zurückkehren können. Vielleicht ist gerade im Speichel, Auswurf, Rachen- und Nasensekret für die Streptokokken und auch für andere Bakterien die Bedingung zur Hüllenbildung gegeben.

Literatur.

- 1) Seitz, Joh., *Streptococcus aggregatus*. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XX. 1896. p. 854.)
- 2) Kurth, Bakteriologische Untersuchungen bei Maul- und Klauenseuche. (Arb. a. d. kais. Ges.-A. Bd. VIII. 1895. p. 439.)
- 3) — —, Beiträge zur Kenntnis des Vorkommens pathogener Streptokokken im menschlichen Körper. (Berl. klin. Wochenschr. 1889. p. 45. — Arb. a. d. kais. Ges.-A. Bd. VII. 1891.)
- 4) Sanfelice, Ueber einen Befund an von Maul- und Klauenseuche befallenen Tieren. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVI. p. 896.)
- 5) Liesenberg und Zopf, Ueber den sogenannten Froschlaichpilz (*Leuconostoc*). (Beitr. z. Phys. u. Morph. d. nied. Organe. Leipzig 1892. Heft 1.)
- 6) Binaghi, Ueber einen *Streptococcus capsulatus*. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXII. p. 273.)
- 7) Schütz, Die Ursache der Brustseuche der Pferde. (Arch. f. prakt. u. wissenschaftl. Tierheilk. Bd. XIII. 1887.)
- 8) Jensen und Sand, Die Aetiologie der Druse. (Dtsche Zeitschr. f. Tierheilk. u. vergl. Pathol. Bd. XIII. 1888.)
- 9) Lubarsch und Ostertag, Ergebn. d. allgem. Path. u. pathol. Anat. Jg. III. 1896. p. 175.
- 10) Besser, *Streptococcus pseudopyogenes*. (Beitr. z. pathol. Anat. u. allgem. Pathol. Bd. VI. p. 357.)
- 11) Behla, Der *Streptococcus involutus* und der Erreger der Maul- und Klauenseuche. (Berl. tierärztl. Wochenschr. Bd. XLV. p. 532.)
- 12) Doernberger, Ueber das Vorkommen der Streptokokken in der normalen und kranken Mundhöhle der Kinder. (Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. XXXV. 1893. p. 39.)
- 13) Veillon, Recherches sur l'étiologie et la pathologie des angines aiguës non diphtériques. (Arch. de méd. expér. et d'anat. pathol. 1894. No. 2.)
- 14) Herzberg, Sind in der Mundhöhle mit Ammenmilch ernährter Säuglinge Streptokokken vorhanden? (Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 1. p. 17.)
- 15) Biondi, Die pathogenen Mikroorganismen des Speichels. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. II.)
- 16) Netter, Microbes pathogènes dans la bouche de sujets sains. (Revue d'hygiène. T. XI.)

- 17) Podbielsky, Untersuchung der Mikroben der Mundhöhle von Erwachsenen und Kindern im gesunden Zustande. [Diss.] Kasan 1890.
- 18) Hilpert, Ueber das konstante Vorkommen langer Streptokokken auf ges. Tonsillen u. s. w. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXI. p. 381.)
- 19) Lehmann und Neumann, Atlas und Grundriß der Bakteriologie. 3. Aufl. p. 140 u. 519.
- 20) Kruse und Pansini, Ueber Streptococcus lanceolatus und pyogenes. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XI. p. 279.)
- 21) Hlava, Leuconostoc hominis und seine Rolle bei den akuten exanthematischen Krankheiten (Scharlach, Masern, Flecktyphus). (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXII. 1902. p. 263.)

Nachdruck verboten.

Beiträge zur Kenntnis des Labenzym.

[Aus der k. k. Universitätskinderklinik in Wien. (Vorstand:
Prof. Escherich).]

Von Dr. **Ernst Moro** in Wien.

Ueber das Vorhandensein des Labes im Magen Neugeborener.

Die Angaben über das Vorkommen oder Fehlen des Labenzym im Magen des Neugeborenen widersprechen einander.

Raudnitz¹⁾ fand, daß bei 1—7 Tage alten Säuglingen der Magen keine oder nur sehr geringe Labfähigkeit besitzt. Leo²⁾ konnte in allen daraufhin untersuchten Fällen, unabhängig vom Gesundheitszustand der Säuglinge, wirksames Lab im Magen nachweisen. Van Puteren³⁾ vermißt die labende Wirkung des Magensaftes bei Säuglingen bis zum 24. Lebenstage. Szydlowski⁴⁾ findet wirksames Lab im Magen von Neugeborenen in allen untersuchten Fällen.

Zum Nachweise des Labfermentes bedienen sich sämtliche Autoren des frisch entnommenen Magensaftes, und zwar untersuchte Raudnitz die Spülfüssigkeit des Magens, Leo und van Puteren den mittels der Sonde entnommenen Mageninhalt.

Szydlowski verwendete zu seinen Versuchen nur unfiltrierten Mageninhalt, da, wie er sich überzeugen konnte, das Labenzym mit großer Zähigkeit an den Gerinnseln des Filtrerrückstandes anhaftet und die Untersuchungen des Filtrates somit negative Resultate vortäuschen können.

Die Entscheidung der Frage, ob die Magenschleimhaut schon beim neugeborenen Kinde wirksames Lab enthält oder nicht, hat, abgesehen vom allgemeinen physiologischen Interesse, noch eine weitere Bedeutung. Es wurde nämlich von Fuld⁵⁾ mit Nachdruck die Vermutung ausgesprochen, daß das Lab als „Antikörper“ des Milchkaseins aufzufassen sei, wofür mehrere Ueberlegungen maßgebend erscheinen. Wir werden im weiteren auf diese Frage zurückkommen. Stellt es sich heraus, daß

1) Prag. med. Wochenschr. 1887. No. 24.

2) Berlin. klin. Wochenschr. 1888. No. 49.

3) Materialien zur Physiologie der Magenverdauung des Säuglings. Inaug.-Diss. St. Petersburg 1889.

4) Jahrb. f. Kinderheilk. Bd. XXXVI.

5) Fuld, Ueber Milchgerrinnung durch Lab. (Ergebn. d. Physiol. 1902. Abt. I. Biochemie.)

das zeitliche Erscheinen des Labfermentes in der Tat mit der ersten Einführung des Kaseins zusammenfällt, während zu einer Zeit, zu welcher die Magenschleimhaut noch nicht mit dem Milcheiweiß in Berührung gekommen war, der Magen labfrei ist, so gewinnt die oben genannte Vorstellung entschieden an Wahrscheinlichkeit. In der Voraussicht, daß es sich dabei nur um geringe Labquantitäten handeln kann, sah ich von der Prüfung des ausgeheberten Mageninhaltes vollkommen ab und wählte zum Ausgangsmaterial meiner Untersuchungen ausschließlich konzentrierte Glycerinextrakte der abpräparierten Magenschleimhäute bald nach der Geburt verstorbener oder totgeborener Säuglinge.

Die Schleimhaut der Magen wurde sorgfältig abpräpariert, fein zerkleinert und mit einer geringen Menge wässerigen Glycerins (10 Proz.) übergossen. Um die Glycerinextrakte, die sich übrigens gegen bakterielle Infektionen als sehr resistent erwiesen, vor konsekutiver Fäulnis zu schützen, bediente ich mich mit Vorteil des von Fuld für diese Zwecke empfohlenen Senföles, wobei die Wirksamkeit des sonst so überaus empfindlichen Labenzym in keiner Weise beeinträchtigt wurde. Die Extrakte verweilten unter diesen Kautelen 48 Stunden im Thermostaten (38° C) und wurden hierauf filtriert zur Untersuchung herangezogen. Das Material zur Darstellung des Labes war in den einzelnen Fällen ein so geringes, daß ich es im späteren Verlaufe für angezeigt hielt, nur noch Glycerinextrakte mehrerer (4—5) Magen zu verwenden.

Die filtrierten, schwach sauer reagierenden Extrakte wurden auf rohe, unverdünnte Kuhmilch in Thermostaten einwirken gelassen und 2 Stunden hindurch beobachtet.

Dem liebenswürdigen Entgegenkommen des Herrn Prof. Ghon verdanke ich die Ueberlassung des Leichenmaterials.

Tabelle I.

Glycerinextrakte von	Menge	Rohe Kuhmilch	Labgerinnung
1 Magenschleimhaut eines totgeborenen Kindes	0,1, 0,5 ccm	5 ccm	θ
4 Magenschleimhäute von teils totgeborenen, teils bald nach der Geburt verstorbenen Säuglingen	0,1, 0,5, 2 ccm	5 "	0,1 ccm nach 1½ Std. 0,5 " " 1 " " 2,0 " " 15 Min.
2 Magenschleimhäute, wie oben	0,1, 0,5 ccm	5 "	0,1 " " 1½ Std. 0,5 " " 1½ "
1 Magenschleimhaut eines bald nach der Geburt an Asphyxie verstorbenen Säuglings	0,1, 0,5, 2 ccm	5 "	0,1 " θ 0,5 " nach ½ Std. 2,0 " nach einigen Min. kompakt

Die Tabelle I zeigt, daß bis auf den ersten Fall sämtliche Versuche ein positives Resultat zu Tage förderten.

Da es sich ausnahmslos um Säuglinge handelte, welche sicherlich noch keine wie immer geartete Nahrung aufgenommen hatten, so ist daraus der Schluß zu ziehen, daß die Magenschleimhaut des Neugeborenen wirksames Labenzym enthält und daß das Lab, unabhängig von der ersten Nahrungsaufnahme, bereits vor derselben, im nüchternen Magen, nachweisbar ist.

Mit der Entscheidung der Frage in diesem Sinne büßt die Annahme,

daß wir im Lab den Gegenkörper des Kaseins zu erblicken haben, wesentlich an Haltbarkeit ein. Die theoretische Möglichkeit, daß das Lab der Magendrösen ursprünglich als Reaktionsprodukt des Kaseins aufzufassen ist, und daß es späterhin durch Anpassung und Vererbung schon vor der Einführung der Milch erscheint, bleibt gewiß in ungeschwächtem Grade bestehen; allerdings verhält es sich dabei mit dem Lab nicht anders, als mit den übrigen Verdauungsfermenten, die nach Pawlow ebenfalls im wesentlichen als spezifische Reaktionsprodukte der eingeführten Nahrungsstoffe aufzufassen sind. Im übrigen kennen wir sehr genau ein echtes Antitoxin des Labenzym, das sogenannte Antilab, welches im Blute mit Lab vorbehandelter Versuchstiere erscheint und mit dem Kasein nichts zu tun hat. Wäre die Annahme, daß das Lab der Antikörper des Kaseins sei, richtig, so müßten wir im Antilab ein Antiantitoxin erblicken, dessen Darstellung experimentell weder gelungen ist, noch gelingen wird.

Andererseits kennen wir einen Körper, der per analogiam als Antikörper des Milchkaseins aufzufassen ist und im Blute der mit Milchkasein vorbehandelten Versuchstiere erscheint und die Eigenschaft hat, das Kasein aus seinen Lösungen auszufällen. Die Wirkung dieses Körpers hat allerdings eine gewisse äußerliche Aehnlichkeit mit jener des Labenzym, jedoch unterscheidet sie sich und zwar wesentlich von der Labreaktion, indem bei der Fällung des Kaseins mit Laktoserum die Abspaltung eines albumosenartigen Körpers von den Eigenschaften des Molkeneiweißes, wie dieselbe bei der Labkoagulation stattfindet, nicht nachzuweisen ist (P. Th. Müller)¹⁾.

Endlich suchte ich noch zu ermitteln, ob zwischen den oben definierten Antitoxinen des Milchkaseins und des Labes, dem Laktoserum und dem Antilab irgendwelche Beziehungen auffindbar sind. Antilab wurde mit der gleichen Menge von Laktoserum gemischt und dieser Mischung Milch zugesetzt. Es ergab sich keine die Präzipitation der Milch hemmende Wirkung.

Aus den obigen und aus diesen Ausführungen ergibt sich, daß wir zurzeit keineswegs berechtigt sind, das Lab als einen Antikörper des Milchkaseins anzusprechen.

Ueber die Spezifität tierischer Labenzyme.

Zur Prüfung der Spezifität eines Enzym kann man sich mit Vorteil der Immunitätsreaktion bedienen, vorausgesetzt, daß das Immunisierungsverfahren im Organismus des Versuchstieres auch wirklich die Bildung eines entsprechenden Antikörpers zur Folge hat. Daß dem nicht immer so sein muß, beweisen die Versuche von Landsteiner²⁾, dem es nicht gelungen ist, beim Kaninchen durch Immunisierung mit Trypsin Antitrypsin zu erzeugen. Andererseits gewann Hildebrandt³⁾ schon im Jahre 1893 auf dem Wege subkutaner Injektion von Emulsin ein Antitoxin im Blutserum der Versuchstiere, dessen hemmende Wirkung auf Emulsin er auch im Reagenzglase nachweisen konnte. Desgleichen teilt er die Beobachtung mit, daß beim Menschen auf die erstmalige Verabreichung von Labklysmen Fieber auftritt, was späterhin nicht mehr der Fall ist, und deutet diese Temperaturerhöhung als Immunitätsreaktion.

1) Münch. med. Wochenschr. 1902. No. 7.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVII.

3) Virchows Arch. Bd. CXXXI.

Sehr ausgedehnte und einwandfreie Versuche auf diesem Gebiete haben Morgenroth¹⁾ und Briot²⁾ angestellt, und zwar betreffen diese gerade das Labenzym und seinen Antikörper, das Antilab. Morgenroth gelang es, durch systematische Immunisierung von Ziegen mit dem Extrakte eines Labpulvers von Witte in Rostock (1:3 Mill.) binnen relativ kurzer Zeit ein intensiv wirksames Antilab zu gewinnen, das sowohl im Serum als auch in der Milch der vorbehandelten Ziegen nachweisbar war. Die Anwesenheit und Wirksamkeit dieses Antikörpers konnte auf einfache Weise dadurch ermittelt werden, daß das Serum der Labziegen in entsprechenden Verhältnissen mit einer wirksamen Lablösung gemischt und diese Mischung auf rohe Kuhmilch einwirken gelassen wurde. blieb dabei die Labgerinnung aus, so war damit die Anwesenheit des labhemmenden Antilabs ermittelt; die Grenze, bis zu welchen Verdünnungen die Gerinnungshemmung unter sonst gleichbleibenden Versuchsverhältnissen gerade noch eintrat, gab die Wirkungsintensität des erzeugten Antilabs an.

Ich bediente mich zur Herstellung des Antilabs der Labessenz (Merck, 1:10000), die anfangs in verdünnter Form (0,85-proz. Kochsalzlösung) und nach einer Woche bereits in konzentriertem Zustande und in steigenden Dosen Kaninchen subkutan injiziert wurde. Die Kaninchen ertrugen die Immunisierung genügend gut, bis auf den Umstand, daß sie nach einer bestimmten Zeit an der Injektionsstelle mit der Bildung eines derben Infiltrates reagierten, einer Erscheinung, der wir ja auch nach Injektionen von Milch und anderen eiweißhaltigen Flüssigkeiten begegnen, und die von v. Pirquet und Schick als Empfindlichkeitsreaktion beschrieben worden ist. Darauf ist auch die bei einzelnen Kaninchen nach mehreren Wochen eintretende Kachexie zurückzuführen, die mit dem von Schepilewski³⁾ durch Injektionen von sterilem Labenzym erzeugten und als Amyloid gedeuteten Krankheitsbilde identisch sein dürfte.

Auf die angedeutete Weise gelang es mir, in allen Fällen ein Antilab zu erzeugen, das zwar an Wirksamkeit jenem von Morgenroth bei Ziegen erzeugten beträchtlich zurückstand, für unsere Zwecke jedoch vollkommen ausreichend war. Das Serum normaler, nicht vorbehandelter Kaninchen wurde nicht antilabend gefunden, während unser Immunserum noch das 80-fache der eben noch wirksamen Labessenzverdünnung von 1:80 vollständig zu paralysieren vermochte.

Im Besitze dieser Reagentien war es uns nunmehr möglich, die Untersuchung der Frage nach der Spezifität der tierischen und menschlichen Labenzyme in Angriff zu nehmen, nachdem von Morgenroth⁴⁾ schon im Jahre 1900 für die von den Blüten von *Cynara cardunculus* gelieferte Cynarase der Beweis erbracht worden war, daß die pflanzlichen mit den tierischen Labenzymen nicht identisch seien.

Hemmt das durch Injektionen von Labessenz (Kälberlab) erzeugte Antilab, welches wir nun kurzweg Rinderantilab nennen wollen, die Gerinnung der Kuhmilch durch Menschenlab oder nicht?

Aus diesen mehrfach angestellten Versuchen geht hervor, daß das Rinderantilab nicht nur auf das Kälberlab, sondern auch auf das Menschenlab einen hemmenden Einfluß ausübt. Ein so tiefgreifender

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXV. 1899.

2) Compt. rend. soc. biol. T. CXXXVIII.

3) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXV. 1899.

4) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVII. 1900.

Unterschied zwischen den beiden Enzymen, der sich dahin äußern würde, daß das Rinderantilab das Menschenlab gar nicht neutralisieren könne, war also nicht vorhanden.

Es war demnach unsere nächste Aufgabe, die Wirkungsintensität des Menschenlabs und des Rinderlabs vergleichsweise genau zu ermitteln. Dabei bediente ich mich der von Morgenroth¹⁾ zur quantitativen Bestimmung des Labes eingehend beschriebenen Methode, und es ergab sich, daß unser Menschenlab gerade der 20-fach verdünnten Labessenz entsprach (vergl. Tabelle II). Mit Berücksichtigung der quantitativen

Tabelle II.

0,5 ccm Rinderlab + 0,5 ccm phys. NaCl-Lös. + 5 ccm Kuhmilch	Lab- gerinnung	0,5 ccm Menschenlab + 0,5 ccm phys. NaCl-Lös. + 0,5 ccm Kuhmilch	Lab- gerinnung
Verdünnung 1 : 10	sofort	Verdünnung 1 : 1	nach $\frac{1}{2}$ Std.
„ 1 : 20	nach $\frac{1}{2}$ Std.	„ 1 : 2	nach $\frac{3}{4}$ Std.
„ 1 : 50	nach 1 Std.	„ 1 : 5	⊕
„ 1 : 100	⊕	„ 1 : 10	⊕
„ 1 : 80	nach $1\frac{1}{4}$ Std.	„ 1 : 4	nach $1\frac{1}{4}$ Std.
0,5 ccm Rinderlab + 0,5 ccm Rinderantilab + 5 ccm Kuhmilch	Lab- gerinnung	0,5 ccm Menschenlab + 0,5 ccm Rinderantilab + 5 ccm Kuhmilch	Lab- gerinnung
Verdünnung 1 : 50	⊕	Verdünnung 1 : 10	⊕
„ 1 : 20	⊕	„ 1 : 4	⊕
„ 1 : 10	⊕	„ 1 : 2	nach 2 Std.
„ 1 : 1	⊕	„ 1 : 1	nach 1 Std.
unverdünnt 0,75 ccm	nach ca. 1 Std.	unverdünnt 0,75 ccm	sofort

Verhältnisse ergab sich ein Unterschied, der darin bestand, daß das Rinderantilab auf das Rinderlab eine viel intensivere Wirkung entfaltete, als auf das Menschenlab, und zwar finden wir bei unseren Versuchen die Wirkung des Rinderantilabs auf das Rinderlab 40mal stärker als auf das Menschenlab. Die beiden in Rede stehenden Enzyme, das Rinderlab und das Menschenlab, sind demnach spezifischer Natur, d. h. in ihrer haptophoren Gruppe verschieden, wenngleich eine nicht geringe Universalität der tierischen Labenzyme vorzuherrschen scheint.

Von Interesse für die Frage nach der Spezifität der tierischen Labenzyme ist endlich eine Mitteilung von Duclaux²⁾, wonach es eine den Oekonomen sehr wohlbekannte Tatsache ist, daß tierische Milcharten von den entsprechenden Labenzymen rascher zur Gerinnung gebracht werden, als wenn man sich zur Labung des von einer anderen Tierart stammenden Enzyms bedienen würde.

Ueber Antilab in der Menschenmilch.

In seiner Arbeit: Ueber das Verhalten des Labenzyma im Säuglingsmagen³⁾ berichtet Szydlowski über einen Versuch, dessen Er-

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVI. 1899.

2) Zitiert nach Fuld, Ergebn. d. Physiol. Abt. I. Biochemie.

3) Prag. med. Wochenschr. 1892.

gebnis auf eine labhemmende Wirkung der Frauenmilch zurückzuführen ist.

„Ein Zusatz frischer Frauenmilch zur frischen Kuhmilch hat einen auffallenden Einfluß auf das Zustandekommen der Kaseifikation. Dieser Einfluß macht sich in der Weise bemerkbar, daß erstens das Zustandekommen der Kaseifikation in der Kuhmilch auffallend verzögert wird und daß zweitens die Kaseifikation nicht als festes Labkoagulum zu stande kommt, sondern in lockeren, nicht zusammenhängenden Gerinneln. Diese Eigenschaft der Frauenmilch erlischt aber merkwürdigerweise, wenn man die Frauenmilch kocht. Nach dem Zusatz gekochter Frauenmilch zu der Kuhmilch kann man keinen hemmenden Einfluß auf die Kaseifikation der letzteren konstatieren.“

Fuld¹⁾ mißt dieser Beobachtung Szydłowski's eine größere Bedeutung bei; er erblickt in dieser Reaktion einen dringenden Hinweis auf das Vorkommen eines sogenannten Antilabs in der Menschenmilch und meint, daß dieser Befund in hohem Grade dazu geeignet ist, neben den dafür bereits verantwortlich gemachten Faktoren (geringe Konzentration und mangelnde Acidität, Mangel an Ca, besonders des Kaseins, welches auch mit Säuren in der Kälte schlechter fällt etc.) die Ungerinnbarkeit der Frauenmilch zu erklären.

Ich habe den Szydłowski'schen Versuch einer Nachprüfung unterzogen und gelangte gleichfalls zu einem positiven Resultate, das zu seiner Erklärung die Annahme einer echten antilabenden Wirkung der Menschenmilch notwendig macht. Setzt man zu 0,5 ccm einer entsprechend verdünnten Labessenz (s. p. 486) die 4-fache Menge roher Frauenmilch zu und läßt man dieses Gemisch auf 5 ccm roher Kuhmilch einwirken, so bleibt die Labung der Kuhmilch aus, während in der in gleichen Verhältnissen angesetzten Kontrollprobe mit gekochter Frauenmilch sehr bald (nach Ablauf von $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{2}$ Stunde) die Kuhmilch vollständig geronnen ist. Allerdings ist hervorzuheben, daß diese letztere Reaktion nur dann stattfindet, wenn man nachträglich der Probe CaCl (0,5 ccm einer gesättigten Lösung) zusetzt. Dieser Calciumzusatz ist zum Ersatze der hitzegefällten Kalksalze der sterilisierten Frauenmilch dringend notwendig, läßt jedoch die Reaktion mit roher Frauenmilch fast gänzlich unbeeinflusst. Zum Zustandekommen dieser Reaktion soll die Menschenmilch auf das Labenzym noch vor dem Hinzutreten der Kuhmilch eine Zeit lang ($\frac{1}{2}$ Stunde bei 38° C) eingewirkt haben. Im übrigen glich die Versuchsanordnung der auf p. 486 beschriebenen.

Im Verlaufe der Untersuchungen ergab sich die interessante Tatsache, daß die antilabende Fähigkeit der Menschenmilch eine spezifische ist, indem dieselbe nur auf Kuh- bzw. Kälberlab, nicht aber auf Menschenlab einwirkte. Die Mischung von roher Frauenmilch mit 0,5 ccm Menschenlab (in der Grenzverdünnung von 1:4) übte auf Kuhmilch keinen gerinnungshemmenden Einfluß aus. Dieser Unterschied der Reaktion ist ein weiterer Hinweis auf die Spezifität der beiden in Rede stehenden Labfermente.

Die Frage nach der Herkunft dieses Antifermentes in der Menschenmilch ist nicht leicht zu entscheiden. Es ist möglich, daß es mit dem im Blutserum des Menschen von Helge Røden²⁾ nachgewiesenen Antilab identisch ist; es ist aber auch nicht ausgeschlossen, daß es sich

1) l. c.

2) Upsala Läkareförenings förhandlingar. Bd. XXII. p. 546.

um eine spezifische Reaktion des Menschenmilchkaseins selbst handelt. Hierin begegnen wir der gleichen Schwierigkeit wie bei der Beantwortung der Frage nach der Herkunft der in letzter Zeit zahlreich beschriebenen Milchfermente im allgemeinen.

Das Vorkommen des Antilabs in der Tierreihe ist bereits von Røden und Briot untersucht worden und es ergab sich, daß insbesondere das Blutserum von Pferd und Schwein normalerweise wirksames Antilab enthält. Von Interesse ist die Beobachtung, daß die Milch dieser Tiere schlechter gerinnt, als die Kuhmilch, Ziegenmilch und Schafsmilch. Von Morgenroth und Briot wird angenommen, daß die Entstehung dieses Antikörpers im Blute als eine Immunitätsreaktion auf geringe Mengen normalerweise resorbierten Labs zurückzuführen ist. Eine Bedeutung für die Verdauung ist diesem Antikörper von vornherein abzusprechen, weil er, wie wir gesehen haben, nur auf Kuhlab, nicht aber auf Menschenlab einwirkt.

Das Eine steht jedoch fest, daß das in der Frauenmilch normalerweise vorkommende Antilab mit zur Erklärung der Ungerinnbarkeit der Frauenmilch durch Rinderlab herangezogen werden darf, was bereits Fuld mit Nachdruck hervorgehoben hat.

Nachdruck verboten.

Glischrobacterium als Ursache der schleimigen Gärung des Menschenurins.

[Aus dem Bakteriologischen Institut der Charkowschen Medizinischen Gesellschaft.]

Von Dr. E. A. Rothmann, prakt. Arzt, Charkow.

Unter den verschiedenen Gärungsformen gehört die schleimige zu den häufig vorkommenden. Pasteur (1) hat seinerzeit bewiesen, daß die sogenannten fadenziehenden Weine (Vin filant) durch die Entwicklung eines bestimmten Parasiten, *Micrococcus viscosus*, bedingt werden. Desgleichen wird die schleimige Gärung des Biers durch ein kurzes Stäbchen, welches van Laer (2) im Jahre 1889 beschrieben hat, hervorgerufen. Der *Bacillus viscosus* van Laer ist 1,6–2,4 μ lang, 0,8 μ breit, verflüssigt die Gelatine nicht und wächst nicht nur in zuckerhaltigen Flüssigkeiten, sondern auch in Abwesenheit von Glukose. Den am meisten geeigneten Boden für die Entwicklung des *Bacillus viscosus* stellen die stickstoffhaltigen Flüssigkeiten dar. Die saure Reaktion verhindert das Wachstum nicht. Der dabei entstehende Schleim besteht in chemischer Beziehung aus zwei Substanzen, wovon die eine stickstoffhaltig ist und im Wasser unlöslich, während die andere stickstofffrei, in Wasser löslich, dagegen in Alkohol unlöslich ist. Nach einigen Kennzeichen unterscheidet van Laer drei Varietäten des von ihm entdeckten *Bacillus*, *Bacillus viscosus* No. 1, B. v. No. 2 und B. v. No. 3. Der letztere verflüssigt die Gelatine nicht und unterscheidet sich dadurch scharf von den beiden ersteren.

Die schleimige Gärung der Milch hat auch ein spezifisches Stäbchen, welches von Adametz (3) unter dem Namen *Bacillus lactis viscosus* beschrieben und aus dem Wiener Flußwasser isoliert worden

ist. Der genannte *Bacillus* besitzt die Eigenschaft, eine schleimige Gärung der sterilisierten Milch hervorzurufen, woraus A. schließt, daß die sogenannte fadenziehende Milch möglicherweise von den Kühen stammt, welche auf den sumpfigen Wiesen weiden.

Im Munde ist von Freund ein schleimbildendes Stäbchen unter dem Namen *Bacillus viscosus ochraceus* beschrieben worden. Frankland, Kruse, Jolles u. Winkler, Kramer fanden das schleimbildende Stäbchen in verschiedenen Flüssigkeiten (4).

Was nun die schleimige Gärung des Harns anbetrifft, so wird dieselbe ziemlich selten beobachtet. So z. B. äußert sich F. Guyon (5) in seinem bekannten Lehrbuche der Krankheiten der Harnwege folgenderweise darüber: „Eine solche Erscheinung kommt äußerst selten vor und ich habe dieselbe nur einmal beobachtet. Der ganze Urin war schleimig, jedoch von normaler Farbe, durchsichtig und geruchlos. Derselbe klebte nicht an die Wandungen des Gefäßes, sondern zog in Faden beim Ubergießen. Der Harn hatte eine zähe Konsistenz schon bei dem Abfließen, so daß derselbe gleich einem dichten Oel herausfloß. Am Boden des Gefäßes bemerkte man einen mehr klebrigen Niederschlag, welcher eine Beimischung von noch unverändertem Eiter enthielt. Bei der Untersuchung des frisch gelassenen Urins mit Lackmuspapier hatte derselbe eine deutlich ausgesprochen saure Reaktion. Bemerkenswert ist die Tatsache, daß die Reaktion auch am anderen Tage, trotz der hohen Temperatur, sauer blieb. Im Gegenteil hatte der Niederschlag eine neutrale oder leicht alkalische Reaktion.“ Guyon begnügte sich mit dieser kurzen Erwähnung des seltsamen Urins und teilt nichts mit über Bakteriologie oder Chemie seines Falles.

Bis heute sind nur drei wissenschaftliche Mitteilungen über die schleimige Uringärung veröffentlicht worden. Die erstere davon gehört zwei italienischen Autoren Malerba und Sanna-Salaris (6), welche die Ausscheidung eines fadenziehenden Urins bei einer anscheinend gesunden Frau seit mehreren Jahren zu beobachten Gelegenheit hatten. Eine ausführliche bakteriologische Untersuchung ergab folgende Resultate.

Die schleimige Gärung des Urins wird durch ein kleines Kurzstäbchen hervorgerufen, welches auf verschiedenen flüssigen und festen Nährböden sowohl bei Zimmer- als bei Bruttemperatur wächst. Der *Bacillus* ist fakultativ aerob, entwickelt Gas in den tieferen Schichten des Nährbodens und besitzt die Eigenschaft verschiedenen Flüssigkeiten (Bouillon, Milch, Speichel) eine schleimige, fadenziehende Beschaffenheit zu verleihen, weshalb der Parasit von den Autoren Glischro (*Gliscro*)-*bacterium* genannt wurde. Die Gelatine wird dabei nicht verflüssigt, sondern bekommt mit der Zeit eine leicht bläuliche Farbe.

Die intraperitoneale sowie intrapleurale Einspritzung von lebendigen Kulturen in Kaninchen und Meerschweinchen ergab keine pathogenen Resultate, während die subkutane Injektion bei denselben Tieren eine heftige lokale Eiterung hervorruft. Die Einspritzung ins Blut von Hunden verursacht eine leichte Albuminurie mit Veränderungen in den Nierenpyramiden. Auf solche Weise erwies sich das *Glischro-bacterium* als ein fakultativer Parasit. Was nun den von dem Stäbchen produzierten Schleim anbetrifft, so gibt der letztere, nach Albertoni, dieselben chemischen Reaktionen wie der sogenannte Landwehrsche Tiergummi.

Die zweite von den erwähnten Mitteilungen ist nach einer kurzen

Zeit von Melle (7) veröffentlicht worden. Derselbe isolierte das Glischrobacterium aus dem sauren, fadenziehenden Urin eines 28-jährigen Leprakranken und gelang im wesentlichen zu ganz übereinstimmenden Ergebnissen wie seine Vorgänger. Auf Grund seiner Untersuchungen ist Melle der Meinung, daß der in Rede stehende Mikroorganismus seinen Entwicklungsboden oberhalb der Blase haben müsse. Im Blute seines Kranken fand er das Bacterium nicht. Im entleerten Urin wird das Wachstum des Glischrobacterium bei Luftzutritt und gewöhnlicher Außentemperatur ziemlich lange von anderweitigen Bakterien nicht verhindert, im Gegenteil werden die letzteren bei Anwesenheit des Glischrobacterium gänzlich ferngehalten.

Die dritte diesbezügliche Mitteilung wurde von Colla und Fornaka im Jahre 1895 veröffentlicht. In diesem Falle wurden Schleimfaden einige Zeit nach dem Urinablaufen aus der Harnröhre eines an intermittierender Glykosurie leidenden Mannes entleert, ohne daß man genau einen Zusammenhang zwischen den beiden Erscheinungen feststellen könnte. Aus dem Urin gelang es den Verfassern das schon bekannte Glischrobacterium zu isolieren. Die größere oder geringere Zähigkeit des Harns in diesem Falle sollte in direkter Verbindung mit der Harnsäuremenge stehen.

Nach dieser kurzen literarischen Uebersicht über den fadenziehenden Urin treten wir zur klinisch-bakteriologischen Beschreibung unseres Falles, welcher die vierte bakteriologisch untersuchte Beobachtung einer derartigen Anomalie beim Menschen darstellt; die Ausscheidung von fadenziehendem Urin hat bei folgenden Umständen stattgefunden.

Bei einem 45 Jahre alten Manne haben sich allmählich während der letzten 3—4 Jahre unbestimmte Empfindungen in der Harnröhre entwickelt, welche zeitweise in deutliche Schmerzen übergingen und mit Schleimausscheidung, besonders bei der Defäkation, begleitet wurden. Die Anamnese, urethro-cystoskopische Untersuchung und Harnanalyse schlossen eine vorhergehende venerische Erkrankung aus. Da weder in der Blase noch in der Harnröhre anatomische Veränderungen zu konstatieren waren, wurde dem Kranken, in dessen Harn ein ziemlich voluminöser Niederschlag von alkalischen Erden anwesend war, Contréxeville mit Lithium jodatum und entsprechender Diät verordnet. Mit der Zeit wurde der Krankheitszustand des Patienten viel besser, die unangenehmen Empfindungen in den Harnwegen verschwanden fast spurlos, der Niederschlag im Urin kam selten vor. Aber zu derselben Zeit bemerkte der Kranke eine sonderbare Veränderung in der Beschaffenheit des ausfließenden Harns, welcher glycerinähnlich aussah und bei der chemisch-mikroskopischen Analyse folgendes darstellte: der Harn ist strohgelb, etwas trübe, von saurerer Reaktion, spezifisches Gewicht 1,006, fadenziehend, mit kaum merklichen Spuren von Serumalbumin und Mucin und 40—60 Leukocyten im Gesichtsfelde des Mikroskops.

Die Seltenheit einer solchen Beschaffenheit im Urin hat uns veranlaßt, denselben bakteriologisch zu untersuchen.

In Strichkulturen auf Agar-Agar erschien nach 24 Stunden bei 36° C ein reicher Belag von schleimigen Massen, aus welchen ein kurzes Stäbchen ohne besondere Schwierigkeit gezüchtet werden konnte. Das Wachstum desselben auf Plattenagar hat eine charakteristische Form, indem Konglomerate von zusammenfließenden Kolonien Wurmfiguren mit einem zentralen Kanal und vielen seitlichen Verzweigungen bilden.

In älteren Kolonien ist die metamerische Teilung kaum zu merken, aber der zentrale Kanal bleibt nach wie vor von allen Seiten geschlossen. Auf schrägem Agar zeigt der schleimige Belag kein besonderes Wachstum; die im Kondensationswasser befindliche Membran hat dieselbe zähe Beschaffenheit wie der Belag. Bei der mikroskopischen Untersuchung von isolierten Kolonien haben die jüngeren eine runde Form, sind glattrandig, feinkörnig und von gelbbrauner Farbe, während die älteren grobkörnig sind und gekerbte Ränder besitzen. In Schmierpräparaten sieht man die reine Kultur eines kurzen Stäbchens, welches in einer großen Schicht von Schleim eingebettet liegt. Am besten färbt sich das Stäbchen mit Ziehls Karbolfuchsin durch eine große Menge von 3-proz. Karbolsäurewasser verdünnt. Mit Löfflers Methylenblau erhält man undeutliche Bilder. Nach Gram entfärben sich die Präparate vollständig. Bei der Messung sind durchschnittlich folgende Resultate erhalten worden: 0,7—1,5 μ in der Länge und 0,3—0,5 μ in der Breite. In einem hängenden Tropfen von Bouillonkultur beobachtet man immer außer einer energischen molekularen Bewegung auch eine langsame Ortsveränderung.

Die Stichkulturen auf Gelatine zeigen ein Wachstum längs des Stichkanale; an der Oberfläche ist der Wuchs üppiger. In tieferen Schichten von Nährböden wird die Entwicklung von Gas beobachtet. Bei Abwesenheit von Luftsauerstoff wächst das Stäbchen langsamer; dasselbe erscheint somit fakultativ aerob. Das Temperaturoptimum ist 36° C. Die Temperaturgrenzen für das Wachstum schwanken zwischen + 10° C und zwischen + 10° C und + 45° C.

Fleischbouillon, Milch, 2-proz. Peptonlösung in 0,85 Proz. ClNa bekamen bei der Inokulation mit dem Stäbchen dieselbe Eigenschaft wie der in Rede stehende Harn, d. h. sie wurden fadenziehend. Bouillon bekam dabei eine leichte diffuse Trübung mit einem ziemlich voluminösen Niederschlag am Boden, Milch gerann teilweise. In verschiedenen Sorten von Harn entwickelte sich das Stäbchen nur bei saurerer Reaktion und Anwesenheit von Eiweißspuren, wobei die Reaktion auch nach 24 Stunden bei 36° C sauer blieb. In alkalischem Harn entwickelte sich das Stäbchen nicht.

Es bleibt noch hinzuzufügen, daß das Stäbchen keinen Farbstoff bildet, in Bouillonkulturen schwache Indolreaktion zeigt, auf festem sowie flüssigem Serum schwach wächst, sehr empfindlich gegen Austrocknung ist und bei weiterer Generation seine Eigenschaft, dem Nährboden eine Viskosität zu erteilen, allmählich einbüßt.

Was nun die Experimente an Tieren anbetrifft, so rief die subkutane Injektion einer 3 Tage alten Bouillonkultur bei Kaninchen ein ziemlich derbes Infiltrat hervor, welches sich eine ganze Woche hielt. Die Einführung derselben Kultur in denselben Dosen in die Pleuraperitonealhöhlen von Meerschweinchen gab keine pathogenen Effekte.

Die Ergebnisse der bakteriologischen Untersuchung zeigen also, daß der Erreger der schleimigen Harn gärung in unserem Falle ein Kurzstäbchen darstellt, welches in Bouillonkulturen beweglich ist, fakultativ aerob, sich nach Gram entfärbt, auf verschiedenen flüssigen und festen Nährböden Schleim ausarbeitet und bei 36° C schnell wächst. Da dieses Stäbchen aus einem Harn reingezüchtet worden ist, welcher in physikalischer Beziehung (fadenziehend und saure Reaktion) dem obenerwähnten Falle von Salaris und Malerba analog ist und an die Eigenschaften des *Glischrobacterium* erinnert (Dimensionen,

Temperaturoptimum, die Nichtverflüssigung der Gelatine, Bildung von Gas auf festen Nährböden, fakultativ aërob, Abwesenheit von Farbstoffbildung, schleimige Gärung in verschiedenen Flüssigkeiten), so liegt nahe, anzunehmen, daß der Erreger der schleimigen Gärung des Harns in unserem Falle das Glischrobacterium oder mindestens eine sehr nahe Varietät desselben war. Die letzte Annahme ist dadurch gerechtfertigt, daß die Beschreibung der Autoren der biologischen Eigenschaften des Stäbchens nicht in allem mit der unserigen übereinstimmt (wir fanden kein Wachstum auf Kartoffel, die Aussicht der Kolonien auf festen Nährböden ist nicht genau dieselbe in beiden Fällen).

Die pathogene Wirkung für die Tiere ist nicht groß und so gut wie null für den Menschen, wenn man betrachtet, daß die Träger eines derartigen Harns keine Abnormität in dem allgemeinen Gesundheitszustand zeigten.

Einige Reaktionen berechtigten uns zu der Annahme, daß wir es nicht mit Schleim, sondern mit einem Eiweißkörper zu tun hatten; leider aber wurde eine ausführliche chemische Analyse aus äußeren Gründen nicht unternommen.

Was endlich die Verschleppung des Glischrobacterium in die Menschenblase anbetrifft, so wäre eine Uebertragung mit Nahrungsmitteln (Milch, Wein, Bier) nicht ausgeschlossen, da z. B. im ersten publizierten Falle nichts Pathologisches seitens der Harnblase konstatiert wurde. Bei einem anormalen Zustand der Harnblase ist natürlich die Möglichkeit einer direkten Verbreitung durch die Harnröhre eher annehmbar.

Nebenbei sei bemerkt, daß von ungefähr 70000 chemisch-mikroskopischen Harnanalysen, welche in dem chemisch-mikroskopischen Institut der Charkowschen Med. Gesellsch. von Dr. A. Maslow während einer Zeitperiode von 13 Jahren ausgeführt worden sind, nur 3mal die schleimige Gärung des Urins beobachtet wurde; in Zahlen ausgedrückt, ist die Möglichkeit dieser Erscheinung im Menschenurin wie ungefähr 0,5 pro 10000 gleich.

Zum Schluß halte ich es für eine angenehme Pflicht, den Herren Assistenzärzten des Bakteriolog. Instituts der Charkowschen Med. Gesellschaft, Korschun, Ostrianin und Niedrigailoff meinen innigsten Dank für deren Unterstützung bei meinen bakteriologischen Studien auszusprechen.

Literatur.

- 1) Pasteur, M. L., Etudes sur le vin etc. Paris 1866. p. 62.
- 2) van Zaer, Note sur les fermentations visqueuses. (Centralbl. f. Bakteriolog. 1889. No. 7. p. 308.)
- 3) Adametz, Ueber einen Erreger der schleimigen Milch. (Baumgartens Jahresberichte. Bd. V. 1889. p. 460.)
- 4) Migula, System der Bakterien. Bd. II. 1900. p. 333, 402, 447, 450, 510, 900.
- 5) Guyon, F., Klinische Vorträge über die Harnleiden. [Russische Uebersetzung.] 1899. p. 262.
- 6) Malerba e Sanna Salaris, Baumgartens Jahresb. Bd. IV. 1888. p. 333.; (Centralbl. f. Bakteriolog. Bd. IV. p. 486.)
- 7) Melle, ibid. p. 334.
- 8) Colla e Fornaka, Baumgartens Jahresb. Bd. XI. 1895. p. 606.
- 9) Albertoni, Baumgartens Jahresb. Bd. V. 1889. p. 461.

Nachdruck verboten.

Ueber einen Fall von Meningitis, verursacht durch *Bacterium lactis aërogenes*.

Von Dr. H. Beltzke, Assistenten am pathologischen Institute zu Berlin.

In der Prager med. Wochenschr. Jg. 1900. No. 15 berichtet Scheib über einen Fall von eitriger Meningitis bei einem Säugling, als deren Erreger er *Bacterium lactis aërogenes* feststellen konnte. Ich bin in der Lage, diesem Falle einen zweiten anzureihen, für dessen gütige Ueberlassung ich dem Obduzenten, Herrn Kollegen F. Rosenbach, zu Dank verpflichtet bin. Es handelt sich um ein nicht völlig ausgetragenes, 3 Wochen altes, kongenital syphilitisches Kind männlichen Geschlechts, das mit der Mutter zusammen auf der Syphilisstation des kgl. Charitékrankenhauses vom ersten Lebenstage an behandelt worden war. Außer Ikterus und den Zeichen zunehmender Schwäche war an ihm nichts Auffälliges bemerkt worden. Am 17. Tage verfiel das Kind zusehends und verstarb am Nachmittag des folgenden Tages.

Die Sektion ergab allgemeinen Ikterus, partielle Atelektasen der Lunge, Milzschwellung, parenchymatöse Nephritis und eine diffuse, eitrige Leptomeningitis: An Konvexität und Basis fanden sich längs der Pia-gefäße flächenhaft ausgebreitete, sich allmählich in die Umgebung verlierende, grünlich-gelbliche Flecken; nur an wenigen Stellen der Konvexität war die Pia vollkommen ungetrübt und durchsichtig.

Ausstrichpräparate des meningitischen Eiters ergaben als einzigen Mikroorganismus in großer Menge ein Kurzstäbchen mit abgerundeten Enden, ungefähr doppelt so lang als breit, Gram-negativ, oft zu zweien hintereinander gelagert, hier und da auch mit deutlicher Kapsel versehen. Die später angefertigten Schnittpräparate (Celloidineinbettung, Färbung nach Zieler) bestätigten zunächst, daß außer dem in den Ausstrichpräparaten gefundenen Stäbchen keinerlei andere Mikroorganismen vorhanden waren. Ferner stellte sich heraus, daß die Stäbchen nicht nur in großer Zahl in dem eitrigen Exsudat lagen, sondern auch die Lymphgefäße der Pia an den am meisten befallenen Stellen prall ausfüllten, ein Bild, wie es bei den durch Eiterkokken bedingten schweren Lymphangitiden ganz gewöhnlich ist. Dies Verhalten der Mikroorganismen stellte es über allen Zweifel, daß sie wirklich als die Erreger der vorliegenden Meningitis anzusprechen seien.

Nach der mikroskopischen Untersuchung des Eiters glaubte ich den *Bacillus mucosus capsulatus* (Friedländer) vor mir zu haben; die Züchtung lieferte jedoch ein anderes Resultat. Zur Ausführung derselben wurde an einer geeigneten Stelle das äußere Blatt der Pia mit glühendem Messer versengt, mit steriler Schere durchtrennt und nun der Eiter auf verschiedene Nährböden ausgesät. Es wuchs in Reinkultur ein unbewegliches Stäbchen, das in seinem morphologischen und färberischen Verhalten mit dem in den Ausstrichpräparaten gefundenen übereinstimmte. Auf gewöhnlichem Agar, Glycerinagar und Loeffler-Serum bildete es, ähnlich wie der *Typhusbacillus*, grauweiße, saftige Rasen. In Fleischbrühe entstand eine diffuse Trübung, vom 2. Tage ab ein zerbrechliches Häutchen an der Oberfläche und ein wolziger Bodensatz; die Indolprobe fiel nach 4, 5 und 6 Tagen negativ aus. Gelatine wurde nicht verflüssigt; im hohen Stiche entstand eine

nagelförmige Kultur, in gegossenen Platten entwickelten sich in der Tiefe kleine, runde, glattrandige, bei mikroskopischer Betrachtung leicht gekörnte Kolonien. Milch wurde unter Säurebildung koaguliert; Lackmusmolke unter Rotfärbung stark getrübt; Milchzucker und Traubenzucker wurden unter kräftiger Gasbildung vergoren. Dabei war zu bemerken, daß das Wachstum in der Tiefe der Stichkulturen merklich langsamer vor sich ging als an der Oberfläche. Auf der Kartoffel entwickelte sich ein schleimiger, gelblich-weißer Belag, in dem zuweilen kleine Gasbläschen auftraten.

Nach alledem wird man den gefundenen Mikroorganismus mit dem *Bacterium lactis aërogenes* identifizieren dürfen. Von seinem nahen Verwandten, dem *Bacterium coli*, unterschied er sich durch die Unbeweglichkeit und die fehlende Indolbildung, von dem *Bacillus mucosus capsulatus* durch das typhusähnliche, nicht im mindesten schleimige Aussehen der Agarkulturen und die kräftige Milchzuckervergärung.

Ebenso wie Scheib konnte auch ich eine sehr hohe Pathogenität des isolierten *Bacillus* für Versuchstiere feststellen. Eine weiße Maus, eine weiße Ratte, ein Meerschweinchen und ein Kaninchen erhielten je 1 ccm einer 1-tägigen Bouillonkultur intraperitoneal. Alle Tiere wurden am nächsten Morgen tot aufgefunden. Die Sektion ergab bei allen in der leicht geröteten Peritonealhöhle etwas trübe, gelb-rötliche Flüssigkeit, die neben Eiterzellen reichliche Mengen des verimpften Stäbchens enthielt. Bei dem Meerschweinchen zeigten sich außerdem feine, fibrinöse Beschläge auf der Leberoberfläche. Die Milz war dunkelrot und geschwollen. Im Blute konnten die Bacillen durch das Mikroskop und durch Züchtung in Reinkultur nachgewiesen werden. Die mit einer gleichgroßen Bakterienmenge ausgeführte subkutane Infektion lieferte verschiedene Resultate. Eine weiße Maus starb ebenso rasch wie die intraperitoneal infizierte und hatte gleichfalls eine Reinkultur der Stäbchen im Blute; an vielen Exemplaren ließ sich bei Fixierung der Deckglaspräparate nach Sobernheim eine deutliche Kapsel nachweisen, was bei den anderen Versuchstieren nicht oder nur sehr unvollkommen gelang. Eine Ratte, ein Meerschweinchen und ein Kaninchen bekamen an der Impfstelle einen Absceß, der bei der Ratte und dem Kaninchen in 3—4 Tagen, bei dem Meerschweinchen erst nach 10 Tagen geheilt war. Ein anderes subkutan infiziertes Meerschweinchen war nach 2 Tagen tot. An der Impfstelle (Bauchhaut) fand sich eine schwere Phlegmone, in der Bauchhöhle ein serös-eiteriges Exsudat und starke fibrinöse Beläge, vor allem an der Oberfläche von Leber und Milz. Die letztere war erheblich geschwollen, die Nebennieren mäßig gerötet. Von der Impfstelle, aus der Bauchhöhle und dem Blute konnten die Bacillen in Reinkultur gewonnen werden.

Ich habe mich vergeblich bemüht, mit dem *Bakterium* bei Kaninchen eine Meningitis zu erzeugen. Ich verlor bei intraduraler Infektion drei Kaninchen hintereinander an akuter Sepsis, wenn ich auch noch so geringe Mengen einer in Kochsalzlösung aufgeschwemmten Agarkultur verwandte. Die Tiere waren regelmäßig am folgenden Morgen tot und zeigten große Mengen des Bacillus im Blute. Einstreichen mehrerer Oesen Agarkultur in die Nase führte ebensowenig zum Ziel. Es stellte sich nur am folgenden Tage ein geringer eiteriger Ausfluß ein, der aber alsbald wieder verschwand; das Tier blieb dauernd gesund.

Die Infektionspforte ist in unserem Falle nicht festgestellt worden.

Scheib fand in seinem Falle eine doppelseitige eiterige Otitis media. Bei uns ist die Untersuchung der Felsenbeine leider unterblieben. Doch ist auch ohne eiterige Otitis eine Infektion der Meningen von der Paukenhöhle aus denkbar, da Hasslauer das *Bacterium lactis aërogenes* mehrfach als Bewohner der normalen Paukenhöhle getroffen hat.

Wir wissen, daß das Säuglingsalter zu Infektionen mit Bakterien der Coli-Gruppe besonders disponiert ist. Jedoch ist die Lokalisation an den Meningen wie überhaupt eine eiterige Meningitis in so frühem Lebensalter etwas seltenes, so daß der im vorstehenden mitgeteilte Fall einiges Interesse verdienen dürfte.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis der Bakterienflora der erweichten tuberkulösen Herde des Rindes.

[Aus der bakteriologischen Station des Hamburgischen Veterinärwesens.]

Von **Karl Oestern**, Polizeitierarzt in Hamburg.

(Schluß.)

Beschreibung der Staphylokokken.

Im Anschlusse an die Mitteilung der Kulturversuche kann ich die Uebersicht über die kulturellen Eigenschaften der Staphylokokken des Rindes zusammenstellen:

I. Weiß wachsende Kokken.

Die weißen Staphylokokken des Rindes sind von runder Gestalt und ungleichmäßiger Größe, deren Durchmesser zwischen $0,7-1,1 \mu$ schwankt und deren Größe durchschnittlich $0,9 \mu$ beträgt. Sie liegen entweder einzeln oder in Gruppen zusammen, oft auch in Diplokokkenform, selten jedoch sind sie zu Tetrakokken vereinigt. In Kulturen finden sie sich häufig zu traubigen Gebilden angeordnet. Beweglichkeit ist nicht vorhanden. Der fakultativ anaerobe Saprophyt wächst bei Zimmer- und Blutwärme, sein Temperaturoptimum ist $30-37^{\circ} \text{C}$. Er färbt sich leicht mit den gewöhnlichen Anilinfarben und nimmt auch gut die Gramsche Färbung an. In Gelatineplatten sieht man bei mikroskopischer Untersuchung nach 24 Stunden feine, weiße Pünktchen, die alle ein gleiches Aussehen besitzen, makroskopisch jedoch noch nicht zu erkennen sind. Nach 3 Tagen erscheinen sie für das Auge eben sichtbar, und dann haben die Kolonien eine beginnende Verflüssigungsschicht um sich. Die Kolonien beginnen nun einzusinken, und ein Unterschied zwischen oberflächlichen und eingeschlossenen macht sich nicht bemerklich. Im mikroskopischen Bilde zeigen sich diese Staphylokokken bei schwacher Vergrößerung und durchfallendem Lichte als kleine, gelbbraune Scheiben von fein granuliertem Aussehen und glattem Rande. Späterhin erweitert sich der Verflüssigungsring, die Kolonien wachsen in dessen Mitte langsam heran und bleiben zunächst noch geschlossen. Erst nach mehreren Tagen, und zwar vom 5. Tage an, lösen sie sich am Rande ab und verteilen sich in der flüssigen Gelatine. Unter dem Mikroskop treten dann einzelne losgelöste Kokkenhaufen in Erscheinung. Oftmals

beginnt die Verflüssigung um jede einzelne Kolonie erst bedeutend später. So habe ich beobachtet, daß in einigen Fällen erst nach 6 Tagen eine beginnende Verflüssigungszone sich zeigte, in 3 Fällen sogar erst am 14. Tage und in 4 Fällen trat überhaupt keine Verflüssigung ein bei mehrwöchentlicher Beobachtung. Die Erweichung schreitet meist sehr langsam vorwärts, und oft vergehen Wochen, ehe eine jede Kolonie in einer Mulde zähflüssiger Gelatine schwimmt. Im Gelatinestich bildet sich nach 2 Tagen an der Einstichstelle eine kleine, weiße, rundliche Auflagerung, die glatt, lackartig und glänzend ist. Die sich allmählich vergrößernde Auflagerung zeigt oftmals einen gelappten, oft einen eingeschnittenen Rand. Das Oberflächenwachstum ist sehr stark und bildet hier schließlich eine kopfförmige Erweiterung. Im Stichkanal entsteht ein schmaler, etwas gekörnter Streifen, der sich nach der Tiefe zu verliert, er verlängert sich auch später nicht weiter, sondern nimmt nur in der Dicke zu in Form von Körnchen und feinsten Kügelchen. Das Ganze hat dann das Aussehen eines Nagels. Oft ist nach 3 Tagen an der Einstichöffnung eine kleine Mulde resp. Delle zu sehen, die mit verflüssigter Gelatine angefüllt ist und sich in den folgenden Tagen immer mehr vertieft. Bald hat die Verflüssigung den Glasrand des Reagenzgläschens erreicht und schreitet mehr oder weniger schnell nach der Tiefe zu fort. Die verflüssigte Gelatine bekommt ein trübes Aussehen, und an der Grenze der festen und verflüssigten Gelatine lagert sich ein grauweißes Sediment ab. Auch hier ist, wie in der Gelatineplatte, der Zeitpunkt der beginnenden Verflüssigung in den einzelnen von mir beobachteten Fällen großen Schwankungen unterworfen. Meistens lag die beginnende Verflüssigung in der Zeit vom 3.—12. Tage, während in einigen Fällen erst nach 14 Tagen am Impfstiche eine geringe Verflüssigungszone sich zeigte und in 4 Fällen überhaupt keine Verflüssigung eintrat. In einem Falle war bereits die ganze Oberfläche der Gelatine mit Kultur bewachsen, und erst dann trat allmählich eine trichterförmige Einsenkung und beginnende Verflüssigung ein. Im allgemeinen tritt bei den weißen Kokken fast immer eine etwas spätere und langsamere Verflüssigung als bei den goldgelben ein. In Agarplatten bilden die Kolonien nach 48 Stunden 2—3 mm im Durchmesser haltende, rein weiße und stark glänzende Scheiben. Es macht sich bereits vom 2. Tage an ein Unterschied zwischen eingeschlossenen und oberflächlich gelegenen Kolonien bemerkbar. Die ersteren bleiben klein, kugelig und weißlich-glänzend, während die letzteren sich anfangs kuppenförmig über das Substrat emporwölben, sich allmählich flach bis zu einem Durchmesser von 2—3 mm ausbreiten und runde, lackartige Scheiben bilden, welche mit glänzender Oberfläche versehen sind. Bei schwacher Vergrößerung erscheinen im durchfallenden Lichte die Kolonien von grauweißer Farbe. Der Rand der oberflächlich gelegenen ist dabei glatt und zum Teil aufgeworfen, der Rand der eingeschlossenen ist dagegen oft von sternförmiger Gestalt. Auf schrägem Agar entsteht nach 24 Stunden längs des Impfstriches ein üppiger, weißer, glänzender, zuweilen schleimiger, zuweilen porzellanartiger, lackartiger Belag mit etwas welligem Rande. Die ganze Impffläche wird gleichmäßig von der Kolonie überzogen und nimmt dieselbe späterhin sehr an Breite zu. Das Kondenswasser ist ungetrübt, am Boden dagegen findet sich ein grauweißer, glänzender Bodensatz. Im Agarstich steht auf der Oberfläche eine dicke und weiße Auflagerung von lackartiger Beschaffenheit. In der Tiefe und zwar den Stich entlang ist das Wachstum geringer,

geht aber in Gestalt von Körnchen über die Impffläche hinaus, das Ganze nimmt so die Gestalt eines Nagels an. Auf Kartoffeln kommt es innerhalb 24 Stunden zu einer weißen, flachen, sich nicht weit von der Impffläche entfernenden Auflagerung, die in den folgenden Tagen dicker wird und sich in Form von trockenen Punkten zeigt, bisweilen einen glänzenden, lackartigen Belag bildet. Bouillon ist bereits nach 24 Stunden gleichmäßig getrübt, es zeigt sich am Boden des Glases ein geringer, weißer Niederschlag, der sich in den folgenden Tagen stark vermehrt. Beim Umschütteln hebt sich der Bodensatz los, durchzieht die Flüssigkeit und ruft eine gleichmäßig flockige Trübung derselben hervor. Auf der Oberfläche findet sich zuweilen ein zartes, weißes Häutchen, das bei Berührung leicht zu Boden sinkt, ein anderes Mal bildet sich ein solches nicht. In einigen Fällen zeigte sich am Rande des Glases an der Oberfläche eine weiße Auflagerung. In sterilisierter Milch wächst der weiße *Staphylococcus* rasch bei 37° C und ruft Gerinnung hervor. Dieselbe trat in einigen Fällen schon nach 2 Tagen, in anderen bedeutend später und in einem Falle überhaupt nicht ein. In der Art der Gerinnung ist insofern ein Unterschied zu konstatieren, als einerseits Gerinnung mit reichlich Molkenausscheidung eintrat, andererseits die Milch zu einer gleichmäßig festen Masse umgewandelt wurde. Auf schrägem Serum bildet sich ein weißer, schwacher Belag von glänzendem, lackartigem Aussehen. Kondenswasser ist klar, am Boden ein weißer, mit einem Stich ins Gelbliche gefärbter Niederschlag.

II. Goldgelb wachsende Kokken.

Der goldgelbe *Staphylococcus*, der 7mal in den von mir untersuchten erweichten tuberkulösen Herden des Rindes beobachtet ist, stimmt in den wesentlichsten Punkten in Betreff seines Verhaltens auf den einzelnen Nährmedien mit dem *Staphylococcus albus* überein. In einzelnen, aber nebensächlichen Punkten zeigt er jedoch ein abweichendes Verhalten. In Gelatineplatten bildet er bereits vom 2. Tage ab kleine, gelbe, punktförmige Kolonien, die von einem Hofe verflüssigter Gelatine umgeben sind. Diese runden, verflüssigten Partien setzen sich scharf gegen die nicht verflüssigte Gelatine ab und erscheinen schwach dellenförmig vertieft. Die Kolonie wächst nur wenig, die Verflüssigung geht jedoch rasch vor sich und die Dellen wachsen bis zu 1 cm Durchmesser heran. Gleichzeitig löst sich die bis dahin feste Kolonie auf und verteilt sich in der verflüssigten Gelatine. Im Gelatinestich entsteht zunächst ein weißer Faden und weißliche Auflagerung, die aber bald eine gelbe Färbung annehmen. Die Oberfläche des Impfstiches senkt sich in einigen Fällen bereits am 3. Tage dellenförmig ein und im Stichkanal ist Verflüssigung eingetreten, die an der Oberfläche bald bis an die Glaswand reicht und mehr oder weniger rasch in die Tiefe fortschreitet. An der Grenze der verflüssigten und festen Gelatine befindet sich ein goldgelbes Sediment. Die verflüssigte Gelatine zeigt zuweilen eine weißgelbliche Trübung, die in einigen Fällen mehr, in anderen weniger stark in die Erscheinung tritt. Auf schrägem Agar entsteht ein breiter, üppiger, schleimig-glänzender Belag von goldgelber Farbe, zuweilen an den Rändern in Weiß übergehend. Je höher die Temperatur, desto rascher bildet sich, aber auch weniger intensiv gefärbt erscheint der Belag. Im Agarstich entstehen goldgelbe Fäden und Körnchen und ebensolche Auflagerungen, das Verhalten ist dem des weißen *Staphylococcus* entsprechend. Auf Kartoffeln entsteht ein

anfangs hellgelber, später goldgelber, dicker, zuweilen mehr trockener, zuweilen saftig-glänzender Belag. Auf Serum bildet er einen glänzenden, gelben Belag mit einem anfangs hellgelb, später mehr goldgelb gefärbten Bodensatz in dem unteren Teile des klaren Kondenswassers. In der Agarplatte sieht man goldgelbe, runde, lackartige Scheiben; bei durchfallendem Lichte erscheinen sie bräunlich. Bouillon ist nach 24 Stunden gleichmäßig getrübt, mit einem gelben Bodensatz, der sich beim Schütteln in Flocken- und Fadenform löst und zum Teil in Form zusammenhängender Fäden die Flüssigkeit durchzieht. Auf der Oberfläche finden sich zuweilen zahlreiche, flockige Massen und dünne Häutchenbildung. Der Rand des Glases ist an der Oberfläche oftmals mit gelblicher Anlagerung versehen. Milch wurde in der Zeit vom 4. bis 14. Tage zum Gerinnen gebracht, nur in einem Falle trat keine Gerinnung ein. Auf allen festen Nährböden haben die Kulturen nach 2 Tagen eine schwachgelbe Farbe, die im Verlaufe einiger Tage dunkel bis goldgelb wird. Bei höheren Temperaturen (im Brütöfen) wachsen sie oftmals hellgelb.

III. Schwach gelb wachsende Kokken.

Die von mir in 3 Fällen gefundenen und näher untersuchten schwachgelben Staphylokokken unterscheiden sich von den oben näher beschriebenen weißen und goldgelben Staphylokokken nur dadurch, daß sie auf den festen Nährböden einen schwachgelben (gelblich-weißen) Belag und einen ebensolchen Bodensatz bilden. Gelatine war in 2 Fällen schon nach 8 Tagen an der Oberfläche des Stichkanals mit einer Verflüssigungsschicht bedeckt. In einem Falle trat nach 10 Tagen Verflüssigung ein. Sterilisierte Milch wurde nach 5—12 Tagen zur Gerinnung gebracht.

Pathogene Eigenschaften der Staphylokokken für kleine Versuchstiere.

Da die von mir aus den erweichten tuberkulösen Herden des Rindes gezüchteten Staphylokokken in ihren Wachstums- und Lebensbedingungen sich untereinander nur durch die Bildung eines mehr oder weniger intensiven Farbstoffes unterscheiden, andererseits auch kein Unterschied in dieser Hinsicht gegenüber dem von mir untersuchten *Staphylococcus pyogenes albus* hom. und *aureus* hom. (vergl. unten) besteht, so habe ich eine Anzahl Fälle von weißen, schwachgelben und goldgelben Staphylokokken auf ihre Pathogenität geprüft und lasse die Versuche nachstehend folgen:

I. Weiße Kokken.

Fall 1.

Einem Meerschweinchen wurde 1 ccm Bouillonkultur subkutan an der Innenfläche des rechten Hinterschenkels injiziert. Nach 5 Tagen hatte sich ein Absceß an der Impfstelle entwickelt. Die mikroskopische Untersuchung ergab Staphylokokken in Reinkultur. Nach 3 Wochen war der Absceß wieder abgeheilt.

Fall 2.

Einem Meerschweinchen wurden 5 ccm Bouillonkultur intraperitoneal injiziert. Nach 7 Tagen hatte sich an der Einstichstelle ein kleiner Absceß gebildet, Staphylokokken in Reinkultur enthaltend. 3 Wochen wurde das Tier beobachtet und blieb gesund.

Fall 6.

Ein Kaninchen erhielt 4 ccm Bouillonkultur intraperitoneal und zeigte keine Veränderungen.

Fall 6.

Nach subkutaner Injektion bei einem Kaninchen entstand ein Absceß an der Injektionsstelle, der reine Staphylokokken enthielt. Allgemeinbefinden war nicht gestört.

Fall 9.

Einer Maus wurde $\frac{1}{2}$ ccm Milchkultur subkutan injiziert. Der Tod trat nach 2 Tagen ein. Die Sektion ergab starke, seröse Infiltration des umliegenden Gewebes.

Fall 10.

Einem Meerschweinchen wurde 1 ccm Bouillonkultur subkutan injiziert. Nach 6 Tagen hatte sich ein Absceß entwickelt, der mikroskopisch Staphylokokken in Reinkultur enthielt. Der Absceß war nach 14 Tagen wieder abgeheilt.

Fall 14.

Ein Meerschweinchen erhielt 6 ccm Bouillonkultur intraperitoneal. Nach 3 Tagen trat der Tod ein. Die Sektion ergab: Bauchfell ist stark gerötet, serös durchtränkt, ebenso der Ueberzug des Darmes. Mikroskopisch sind Staphylokokken in der Bauchhöhle in Reinkultur enthalten, im Herzblute keine Kokken.

Fall 15.

Einem Meerschweinchen wurden 4 ccm Bouillonkultur intraperitoneal injiziert. An der Einstichstelle entstand eine kleine Pustel, das Allgemeinbefinden war nicht gestört.

Fall 15.

Ein Kaninchen erhielt 1 ccm subkutan, es entwickelte sich nach 4 Tagen an der Impfstelle ein Absceß, der Staphylokokken in Reinkultur enthielt und der nach 3 Wochen abgeheilt war.

Fall 16.

Einer Maus wurde am Rücken $\frac{1}{2}$ ccm Bouillonkultur subkutan injiziert, der Tod trat nach 2 Tagen ein. Die Sektion ergab eine seröse Infiltration der Unterhaut.

Fall 18.

Ein Kaninchen erhielt 1 ccm subkutan. Es entstand ein Absceß, mikroskopisch Staphylokokken in Reinkultur enthaltend. Das Allgemeinbefinden war nicht gestört.

Fall 19.

Einem Meerschweinchen wurden 5 ccm Bouillonkultur in die Bauchhöhle injiziert. Der Tod trat nach 2 Tagen ein. Die Sektion ergab folgendes: Der Bauch zeigt sich stark aufgetrieben; das Unterhautbindegewebe und Bauchfell sind serös durchtränkt, das Bauchfell und der seröse Ueberzug der Därme ramiform gerötet. In der Bauchhöhle sind mikroskopisch Staphylokokken in Reinkultur enthalten.

Fall 19.

Ein Kaninchen erhielt 1 ccm Bouillonkultur intravenös injiziert. Es zeigte keinerlei Krankheitserscheinungen.

Fall 21.

Ein Meerschweinchen erhielt 4 ccm einer Milchkultur intraperitoneal injiziert. Das Tier blieb gesund und zeigte keine krankhaften Veränderungen.

Fall 21.

Einem Meerschweinchen wurde 1 ccm Bouillonkultur subkutan injiziert. Es entwickelte sich nach 5 Tagen ein Absceß, der Staphylokokken in Reinkultur enthielt.

Fall 23.

Einer weißen Maus wurde $\frac{1}{2}$ ccm Bouillonkultur subkutan auf dem Rücken injiziert. Der Tod trat nach 2 Tagen ein. Die Sektion ergab: Gallertige Infiltration des Unterhautbindegewebes.

Fall 25.

Ein Kaninchen erhielt 1 ccm subkutan, es entwickelte sich ein Absceß, Staphylokokken in Reinkultur enthaltend.

Fall 25.

Einem Kaninchen wurde 1 ccm Bouillonkultur intravenös injiziert. Es war keine Störung des Allgemeinbefindens zu konstatieren. Das Tier blieb gesund.

Fall 27.

Einem Meerschweinchen wurden 5 ccm Bouillonkultur intraperitoneal injiziert. Nach 2 Tagen trat der Tod ein. Die Sektion ergab: An der Einstichstelle befindet sich etwas Eiter. Das Unterhautbindegewebe ist sulzig durchtränkt. Im freien Raume der Bauchhöhle sowie in den Pleurasäcken ist klare, gelbe, seröse Flüssigkeit vorhanden, Bauchfell sowie Ueberzug des Darmes stark gerötet. In der Bauchhöhle und im Herzblute waren Staphylokokken in Reinkultur nachzuweisen.

Fall 28.

Eine Maus erhielt $\frac{1}{2}$ ccm Milchkultur subkutan injiziert. Der Tod trat nach 3 Tagen ein. Durch die Sektion wurde seröse Durchtränkung und Rötung der Unterhaut festgestellt.

Fall 30.

Einem Meerschweinchen wurden $5\frac{1}{2}$ ccm Bouillonkultur in die Bauchhöhle injiziert. Nach 3 Tagen trat der Tod ein. Die Sektion ergab: An der Einstichstelle findet sich ein kleiner Eiterherd. Das Bauchfell ist serös durchtränkt, ramiform gerötet, ebenso der seröse Ueberzug des Darmes. In der Bauchhöhle ist seröse, gelbe Flüssigkeit vorhanden. In dieser sowie im Herzblute sind Staphylokokken in Reinkultur enthalten.

Fall 31.

Einem Kaninchen wurde 1 ccm Bouillonkultur intravenös injiziert. Eine Störung des Allgemeinbefindens war noch nach Wochen nicht zu konstatieren.

Fall 31.

Nach subkutaner Injektion entstand bei einem Kaninchen ein Absceß, der nach einigen Wochen wieder abheilte und Staphylokokken in Reinkultur enthielt.

Fall 32.

Ein Meerschweinchen erhielt 1 ccm Bouillonkultur subkutan injiziert. An der Impfstelle entstand nach 4 Tagen ein Absceß, Staphylokokken in Reinkultur enthaltend. Nach 20 Tagen war derselbe abgeheilt.

II. Goldgelbe Kokken.

Fall 2.

Einem Meerschweinchen wurden 5 ccm Bouillonkultur in die Bauchhöhle injiziert. Eine Störung des Allgemeinbefindens war nicht zu konstatieren. Das Tier blieb gesund.

Fall 2.

Nach subkutaner Injektion eines Meerschweinchens trat nach 5 Tagen ein Absceß auf, der Staphylokokken in Reinkultur enthielt. Nach 3 Wochen war der Absceß wieder abgeheilt.

Fall 4.

Ein Meerschweinchen erhielt 5 ccm Bouillonkultur intraperitoneal injiziert. Nach 2 Tagen starb das Tier. Die Sektion ergab: Geringe Auftreibung des Bauches, das Unterhautbindegewebe ist etwas serös durchtränkt, das Peritoneum und der seröse Ueberzug des Darmes stark ramiform gerötet. Im freien Raume der Bauchhöhle findet sich eine trübe, seröse Flüssigkeit, in ihr sind Staphylokokken in Reinkultur enthalten.

Fall 6.

Einem Meerschweinchen wurden $4\frac{1}{2}$ ccm Milchkultur in die Bauchhöhle injiziert. Das Tier blieb am Leben, eine Störung der Gesundheit war nicht zu beobachten.

Fall 6.

Bei einem Meerschweinchen entwickelte sich nach subkutaner Injektion ein Absceß, der Staphylokokken in Reinkultur enthielt.

Fall 7.

Einem Kaninchen wurde 1 ccm Bouillonkultur intravenös injiziert. Eine Störung des Allgemeinbefindens trat nicht auf.

Fall 7.

Bei einem Kaninchen entwickelte sich nach subkutaner Injektion ein Absceß, der Staphylokokken in Reinkultur enthielt und der nach 20 Tagen wieder abgeheilt war.

Fall 19.

Ein Meerschweinchen erhielt 6 ccm Bouillonkultur intraperitoneal injiziert. Nach 7 Tagen trat der Tod ein. Die Sektion ergab folgendes: Am Impfstiche befindet sich ein kleiner Eiterherd. Das Bauchfell und der seröse Ueberzug des Darmes sind stark gerötet. In der Bauchhöhle findet sich blutig-seröse Flüssigkeit vor. In der Leber und Niere finden sich einzelne stecknadelkopfgroße Eiterherde. In der Bauchhöhle, in Leber und den Nieren, nicht aber im Blute, sind Staphylokokken in Reinkultur enthalten.

Fall 22.

Ein Kaninchen erhielt 1 ccm Bouillonkultur intravenös injiziert. Eine Störung des Befindens war nach 3 Wochen nicht zu beobachten.

Fall 22.

Einem Meerschweinchen wurde $\frac{1}{2}$ ccm Bouillonkultur intravenös injiziert. Weder lokale noch allgemeine Störungen traten hiernach auf.

III. Schwachgelbe Kokken.

Fall 5.

Einem Kaninchen wurde 1 ccm Bouillonkultur intravenös injiziert. Das Tier blieb gesund, krankhafte Erscheinungen waren nicht zu beobachten.

Fall 5.

Nach subkutaner Injektion eines Kaninchens entwickelte sich ein Absceß; die mikroskopische Untersuchung ergab Staphylokokken in Reinkultur.

Fall 8.

Ein Meerschweinchen erhielt 4 ccm einer Milchkultur intraperitoneal. Eine Störung des Allgemeinbefindens war nicht zu konstatieren.

Fall 8.

Einem Meerschweinchen wurde 1 ccm Bouillonkultur subkutan injiziert. Es entwickelte sich ein Absceß, Staphylokokken in Reinkultur enthaltend.

Fall 30.

Einem Meerschweinchen wurde 1 ccm Bouillonkultur subkutan injiziert. Es entstand ein Absceß, der nach der mikroskopischen Untersuchung Staphylokokken in Reinkultur enthielt.

Zusammenstellung der Impfresultate.

Die pathogenen Eigenschaften für kleine Versuchstiere (Meerschweinchen, Kaninchen und Mäuse) sind bei den weißen, goldgelben und schwachgelben gleich. Sie bestehen darin, daß nach subkutaner Injektion bei Meerschweinchen und Kaninchen, mit Ausnahme eines Falles, sich regelmäßig an der Impfstelle ein Absceß entwickelte, in dem die Staphylokokken in Reinkultur enthalten sind. Nach einigen Wochen heilt derselbe wieder ab und ist keine weitere Störung des Allgemeinbefindens zu beobachten. Bei weißen Mäusen tritt nach subkutaner Injektion nach 2—3 Tagen der Tod ein. Die Sektion ergibt: Seröse bis gallertige Infiltration des Unterhautbindegewebes. Nach intraperitonealer Injektion bei Meerschweinchen trat in vielen Fällen in der Zeit vom 2.—7. Tage der Tod ein, die Sektion ergab dann: Seröse bis eitrige Infiltration des Unterhautbindegewebes und des Bauchfells, im freien Raume der Bauchhöhle seröse, gelbe Flüssigkeit, mikroskopisch wurden in ihr sowie in 2 Fällen ebenfalls im Herzblute Staphylokokken in Reinkultur nachgewiesen. In den übrigen Fällen entwickelte sich an der Injektionsstelle eine kleine Pustel, die bald wieder abheilte, während sonstige Krankheitserscheinungen nicht zu konstatieren waren. Bei Kaninchen entstand nach intraperitonealer Injektion an der Impfstelle ein kleiner Absceß, der bald wieder abheilte. Die Tiere blieben am Leben und zeigten

keine weiteren Veränderungen. Die intravenöse Injektion von 1 ccm Bouillonkultur bei Kaninchen verursachte keinerlei Krankheitserscheinungen. Demnach waren alle, mit Ausnahme eines Falles, von mir näher geprüften Stämme virulent. Allerdings war die Stärke der Pathogenität einigen Schwankungen unterworfen. Dieselbe äußerte sich durch Eiterungen, Peritoniten, Septikämien oder Pyämie.

Vergleich der Resultate mit den literarischen Angaben über die Staphylokokken des Rindes.

Die von mir geprüften Staphylokokken des Rindes unterscheiden sich in einigen wesentlichen Punkten von den bisher in der Literatur verzeichneten. Zunächst soll nach Lucet und de Jong der *Staphylococcus pyogenes bovis* kleiner sein als der *Staphylococcus pyogenes aureus* resp. *albus* hom. Meine diesbezüglichen Untersuchungen ergaben, daß hinsichtlich der Größe kein Unterschied zwischen den von mir untersuchten und dem *Staphylococcus* des Menschen besteht. Hinsichtlich des Wachstums auf festen Nährböden gleichen sich meine Resultate in den wesentlichsten Punkten mit den literarischen Angaben. Als hauptsächlichster Unterschied tritt das angebliche Fehlen der Verflüssigung von Gelatine bei den Staphylokokken des Rindes literarisch in Erscheinung. Lucet und de Jong behaupten nämlich, daß bei den Rinderstaphylokokken keine Verflüssigung der Gelatine eintrete, während andererseits Künemann bei seinen Untersuchungen über Staphylokokken des Rindes dagegen die Verflüssigung ebenso wie ich beobachtet hat. Meine in dieser Hinsicht vorgenommenen Untersuchungen ergaben, daß in 33 Fällen Verflüssigung eintrat, wobei allerdings in der Schnelligkeit große Unterschiede sich bemerkbar machten, während nur in 4 Fällen keine Verflüssigung zu konstatieren war. In diesen Fällen war das Wachstum nur ein sehr geringes. De Jong hat nur einen Fall geprüft und die Arbeit Lucets ist nur wenig eingehend, deshalb dürfte auf diesen angeblichen Unterschied hinsichtlich der Gelatinekulturen nach der Stellungnahme Künemanns und bei Betrachtung meiner Resultate kaum Gewicht gelegt werden. Sterilisierte Milch wurde durch die von mir gezüchteten Kokken regelmäßig mit zwei Ausnahmen zur Gerinnung gebracht, im Gegensatz hierzu haben Lucet und de Jong keine Gerinnung beobachtet. Auch hier scheinen deren Untersuchungen eher ergänzungsbedürftig als beweisend zu sein. Als weiterer anscheinender Unterschied zwischen den in der Literatur gemachten Angaben über die Staphylokokken des Rindes und den von mir geprüften Staphylokokken fällt die verschiedene Virulenz auf. Lucet und de Jong gelang es nicht, durch subkutane Injektion bei Kaninchen und Meerschweinchen und durch intravenöse bei Kaninchen eine Erkrankung hervorzurufen. Auch Künemann glückte es nur in einem Falle, durch subkutane Einverleibung bei Kaninchen einen Absceß hervorzurufen, in den übrigen Fällen trat nur geringe Schwellung an der Impfstelle ein. Demnach war die Virulenz sehr gering. Im Gegensatz hierzu ergaben meine Untersuchungen, daß nach subkutaner Injektion, mit Ausnahme eines Falles, bei Meerschweinchen und Kaninchen regelmäßig ein Absceß sich entwickelte; bei Mäusen trat stets der Tod ein und fand sich bei der Sektion gallertige Durchtränkung der Unterhaut. Intraperitoneale Injektionen bei Meerschweinchen töteten oftmals dieselben und zeigten sich dann Rötung des Bauchfells und Staphylokokken in Reinkultur in der Bauchhöhle, sowie zuweilen auch im

Herzblute enthalten. Intravenöse Injektionen riefen ebenfalls keine krankhaften Veränderungen hervor. Demnach war es ein leichtes, durch subkutane Einverleibung regelmäßig einen Absceß, und durch intraperitoneale Injektion oftmals den Tod hervorzurufen, während intravenöse Injektionen ohne Erfolg waren. Dabei ist aber zu berücksichtigen, daß ich große Quantitäten Kultur benutzte. Was die Arbeit K. angeht, so behandelt dieselbe einen neuen Bacillus, während die Kokken nur mehr beiläufig behandelt sind. Diese Verhältnisse begründen es, daß die Unterschiede zwischen den Angaben in der Literatur und meinen Untersuchungen nicht ausreichen, auf eine Verschiedenheit der Kokken Lucets, de Jongs und Künnemanns von den oben behandelten hinzudeuten.

Pyogene Staphylokokken des Menschen.

Um einen Vergleich zwischen den menschlichen Staphylokokken und denjenigen des Rindes in ihren gesamten Eigenschaften und ihrem Verhalten zu machen, habe ich mir von hiesigen Aerzten 2 weiße und 2 goldgelbe Staphylokokkenkulturen aus menschlichem Eiter beschafft und 1 goldgelbe selbst aus einer Pustel bei einem Menschen gezüchtet.

Beschreibung der pyogenen Staphylokokken nach der Literatur.

Die Staphylokokken des Menschen sind Gegenstand so eingehender Forschungen gewesen, daß die morphologischen und biologischen Eigenschaften derselben genau bekannt sind. Es erübrigt sich daher, alle hierüber vorliegenden Arbeiten einzeln wiederzugeben, sondern es dürfte genügen, die kritischen Monographien über dieselben zu berücksichtigen, wobei ich besonders die Abhandlung von Migula in seinem System der Bakterien und von Neisser und Lipstein in dem Handbuche der pathogenen Mikroorganismen von Kollé und Wassermann beachte.

I. *Staphylococcus pyogenes aureus hominis*.

Der *Staphylococcus* bildet kugelige Zellen von 0,7—1,1 μ Größe, im Durchschnitt 0,9 μ . Er findet sich oft in Diplokokkenform, auch in regellosen Haufen, zuweilen zu traubigen Gebilden angeordnet. Er ist unbeweglich, fakultativ anaërob, wächst am besten zwischen 30 und 37° C. Er ist leicht mit den gewöhnlichen Anilinfarben und nach Gram färbbar. Er ist der gewöhnlichste Eitererreger und sehr verbreitet. In Gelatineplattenkulturen entstehen am 2. Tage kleine, gelbe, punktförmige Kolonien, die von einem Hofe verflüssigter Gelatine umgeben sind. Diese runden, verflüssigten Partien setzen sich scharf gegen die nicht verflüssigte Gelatine ab und erscheinen schwach dellenförmig vertieft. Die Kolonie wächst nur noch wenig, dagegen geht die Verflüssigung rasch vorwärts, und bald schwimmt die bis dahin feste Kolonie in der verflüssigten Gelatine umher. Zwischen oberflächlich gelegenen und eingeschlossenen Kolonien ist wegen der eintretenden Verflüssigung kein Unterschied wahrzunehmen. Im Gelatinestich entsteht zunächst eine gelblich-weiße Auflagerung und ein weißlicher Faden im Stichkanal. Nach einigen Tagen tritt eine strumpfförmige Verflüssigung ein, die an der Oberfläche bald an die Glaswand reicht und von oben nach unten fortschreitet. An der Grenze der festen und verflüssigten Gelatine liegt ein goldgelbes Sediment. Auf schrägem Agar wird ein schleimig-glänzender, goldgelber Belag gebildet, dessen Randpartie häufig weißliche Töne zeigt. Bei höherer Temperatur wird er mehr hell und wächst schneller. Auf erstarrtem Serum wird ein glänzender, goldgelber Belag erzeugt. Auf Kartoffeln entsteht anfangs ein hellgelber, später ein dicker, saftiger, goldgelber Belag. Milch wird nach einigen Tagen zur Gerinnung gebracht. In Bouillon findet lebhaftes Wachstum statt. Dieselbe wird vollständig getrübt, manchmal bildet sich ein dünnes Häutchen auf der Oberfläche, stets ein reichlicher, schleimiger Bodensatz. Gegen Eintrocknung ist der *Staphylococcus* besonders resistent. In Kulturen hält er sich, ohne daß man ihn zu übertragen braucht, wochen- und monatelang. Die Farbstoffbildung findet in jedem monochromatischen Lichte statt. Bei direkter Sonnenbelichtung unterbleibt sie, das diffuse Tageslicht stellt die günstigste Bedingung dar. In ihrer Tiervirulenz schwanken die verschiedenen Stämme ungemein, ohne daß daraus ein Rückschluß auf die Menschenpathogenität möglich ist. Durch Tierpassage kann die Virulenz gesteigert werden. Manche Individuen erweisen sich als sehr widerstandsfähig oder als ganz refraktär. Ein leidlich virulenter Stamm tötet bei intra-

venöser Injektion von $\frac{1}{10}$ ccm Bouillonkultur ein mittelgroßes Kaninchen in 4–8 Tagen. Man findet bei der Sektion Abscesse, die am häufigsten in Nieren und Herz lokalisiert sind. Durch subkutane Injektion von ca. 1 ccm kann man Abscesse erzeugen. Verhältnismäßig sehr unempfindlich ist das Kaninchen für intraperitoneale Impfungen. Man bedarf hier sehr großer Dosen, um Peritonitis und Tod hervorzurufen. Nach Grawitz soll *Staphylococcus* allein keine Peritonitis erzeugen. Dagegen hat Bournay erwiesen, daß durch intraperitoneale Injektionen von *Staphylococcus* es wohl gelingt, Peritonitis hervorzurufen. Weiße Mäuse sterben gewöhnlich akut in 1 bis 3 Tagen. Zeichen einer Pyämie findet man nicht. Meerschweinchen sind unempfindlicher und man kann sie nur durch große intraperitoneal einverleibte Dosen akut töten. Fütterungsversuche bleiben resultatlos.

II. *Staphylococcus pyogenes albus hominis*.

Er bildet auf Gelatineplattenkulturen nach 24 Stunden feine, weiße Pünktchen; ein Unterschied zwischen eingeschlossenen und oberflächlichen tritt nicht hervor. Am 2. Tage haben die Kolonien eine Verflüssigungszone um sich, die scharf gegen die Gelatine abgesetzt ist. Nach mehreren Tagen lösen sie sich auf und verteilen sich in der flüssigen Gelatine. Auf Agarplatten bleiben die eingeschlossenen Kolonien klein, kugelig, weißlich-glänzend, während die oberflächlichen sich anfangs kuppenförmig vorwölben, breiten sie sich allmählich flach zu runden Scheiben aus, in denen das Zentrum oft etwas erhaben ist. Im Gelatinestich entwickelt sich eine weiße, kuppenförmige Auflagerung auf der Oberfläche und im Stich ein weißer Faden. Nach einigen Tagen beginnt im Stich von oben nach unten fortschreitende sackförmige Verflüssigung. Auf schrägem Agar bildet sich ein schleimiger, weißer, glänzender Belag, ebenfalls auf Kartoffeln. Auf erstarrtem Serum entwickelt sich ein schleimig-glänzender, grauweißer Belag mit ebensolchem Bodensatz. Bouillon ist nach 24 Stunden gleichmäßig getrübt, mit einem flockigen Bodensatz. Auf der Oberfläche findet sich zuweilen ein dünnes Häutchen. Milch wird zur Gerinnung gebracht. Im allgemeinen scheint er weniger virulent als der *Aureus* zu sein. Alles, was sonst über den *Aureus* gesagt ist, gilt auch für den *Albus*. Sie unterscheiden sich weder biologisch noch in ihrem Vorkommen noch in ihrer Pathogenität wesentlich voneinander, sondern lediglich durch den Pigmentmangel. Es ist deshalb naheliegend, den *Albus* für einen *Aureus* zu halten, der durch äußere Umstände sein Pigment verloren hat. Dieses ist jedoch noch eine Streitfrage, da es bislang nicht gelungen ist, unter völliger Erhaltung der sonstigen Eigenschaften den *Albus* in einen *Aureus* und umgekehrt zu verwandeln.

Eigene Prüfungen der pyogenen Staphylokokken des Menschen.

Kultur 1. *Staphylococcus pyogenes aureus hominis*.

Agarplatte: Am 2. Tage bilden die Kolonien goldgelbe Pünktchen. Die eingeschlossenen bleiben klein, kugelig, die oberflächlichen wölben sich anfangs kuppenförmig vor, breiten sich späterhin flach aus und bilden rundliche Scheiben.

Gelatineplatte: Am 2. Tage haben sich gelbe, punktförmige Kolonien gebildet, die am 3. Tage von einem Hofe flüssiger Gelatine umgeben sind. Die verflüssigten Stellen sinken dellenförmig ein und am 6. Tage ist die ganze Gelatine flüssig. Die einzelnen Kolonien schwimmen in der flüssigen Gelatine umher resp. ballen sich zu Klumpen zusammen.

Gelatinestich: Auf der Oberfläche gelbe Auflagerung, im Stich weißer Faden. Am 6. Tage tritt im Impfstich von oben nach unten trichterförmige Verflüssigung ein, die am 8. Tage die Glaswand erreicht hat. Die verflüssigte Gelatine ist getrübt, an der Grenze der festen und flüssigen hat sich ein goldgelbes Sediment abgelagert.

Schräger Agar: Schleimig-glänzender, goldgelber Belag, der an den Rändern anfangs weißliche Farbe zeigt, mit ebensolchem Bodensatz.

Kartoffel: Gelblich-weißer, trockener Belag.

Serum: Glänzender, schleimiger, goldgelber Belag mit ebensolchem Bodensatz.

Bouillon: Nach 54 Stunden gleichmäßig getrübt, mit gelbem Bodensatz, der sich beim Schütteln zum Teil abhebt und die Flüssigkeit in Fadenform durchzieht, zum Teil haften bleibt.

Milch: Nach 5 Tagen geronnen, reichlich Serum ausgeschieden.

Pathogenität: Nach subkutaner Injektion von Bouillonkultur beim Meerschweinchen und Kaninchen entstanden Abscesse, die Staphylokokken in Reinkultur enthielten. Eine weitere Erkrankung trat nicht auf.

Einem Meerschweinchen wurden 3 ccm Bouillonkultur intraperitoneal injiziert. Dasselbe blieb am Leben und zeigte in seinem Verhalten keine Veränderungen.

Nach intravenöser Injektion von 1 ccm Bouillonkultur bei einem Kaninchen traten keine krankhaften Erscheinungen auf.

Einer Maus wurde $\frac{1}{2}$ ccm Bouillonkultur subkutan injiziert. Der Tod trat nach 2 Tagen ein. Die Sektion ergab: Gallertige Infiltration des umliegenden Gewebes.

Kultur 2.

Agarplatte: Wie Kultur 1.

Gelatineplatte: Am 3. Tage sind die punktförmigen, gelben Kolonien von einem Hofe flüssiger Gelatine umgeben. Am 7. Tage haben sie sich in der flüssigen Gelatine zusammengeballt.

Gelatinestich: Am 9. Tage ist im Stich dellenförmige Verflüssigung eingetreten. Am 11. Tage hat die Verflüssigung den Glasrand erreicht und am 20. Tage ist die Hälfte der Gelatine verflüssigt. Dieselbe ist getrübt, an der Grenze der festen und flüssigen liegt ein goldgelbes Sediment.

Agarstich: Wie Kultur 1.

Kartoffel: Schleimiger, goldgelber Belag.

Serum: Wie Kultur 1.

Bouillon: Nach 24 Stunden getrübt, mit goldgelbem Bodensatz, der sich beim Schütteln vollständig abhebt.

Milch: Nach 6 Tagen geronnen mit reichlicher Molkenausscheidung.

Pathogenität: Nach subkutaner Injektion von Bouillonkultur bei Meerschweinchen und Kaninchen entstehen Abscesse, die Staphylokokken in Reinkultur enthalten.

Einem Meerschweinchen wurden 5 ccm Bouillonkultur intraperitoneal injiziert. Nach 8 Tagen trat der Tod ein. Die Sektion hatte folgendes Ergebnis: Am Impfstich findet sich ein kleiner Absceß. In der Bauchhöhle und Brusthöhle trübe, seröse Flüssigkeit. Das Bauchfell ist stark gerötet. In der Leber 2 hirsekorngroße, weiße Knoten, in denen ebenso wie in der Bauchhöhle und im Herzblut Staphylokokken in Reinkultur enthalten sind.

Einem Kaninchen wurde 1 ccm Bouillonkultur intravenös injiziert. Das Tier zeigte keine Veränderungen.

Kultur 3 (neu aus Eiter gezüchtet).

Agarplatte: Wie Kultur 1.

Gelatineplatte: Wie Kultur 2.

Gelatinestich: Nach 7 Tagen ist im Impfstich sackförmige Verflüssigung eingetreten, die von oben nach unten fortschreitet. Am 8. Tage hat die flüssige die Glaswand erreicht. Die verflüssigte ist getrübt, an der Grenze findet sich ein goldgelbes Sediment.

Agarstich: Glänzender, lackartiger, goldgelber Belag.

Kartoffel: Wie Kultur 2.

Serum: Wie Kultur 2.

Bouillon: Wie Kultur 2.

Milch: Nach 3 Tagen gleichmäßig gallertig geronnen, wenig Serum ausscheidend.

Pathogenität: Nach subkutaner Injektion bei Meerschweinchen und Kaninchen treten Abscesse auf, Staphylokokken in Reinkultur enthaltend.

Einem Kaninchen wurde 1 ccm intravenös injiziert, es blieb am Leben und zeigte keine Veränderungen.

Einem Meerschweinchen wurden 4 ccm intraperitoneal injiziert. Es bildete sich an der Impfstelle eine kleine Pustel, sonstige Störungen waren nicht zu beobachten.

Kultur 1. *Staphylococcus pyogenes albus hominis*.

Agarplatte: Weiße, glänzende, lackartige, runde Scheiben, die sich kuppenförmig über die Oberfläche vorwölben.

Gelatineplatte: Nach 48 Stunden runde, weiße Punkte, die nach 5 Tagen von einem Hofe flüssiger Gelatine umgeben sind. Die einzelnen Kolonien wachsen nur wenig, der Verflüssigungsring vergrößert sich allmählich. Nach 20 Tagen ist die ganze Gelatine verflüssigt und die einzelnen Kolonien haben sich zu Klumpen vereinigt.

Gelatinestich: Auf der Oberfläche weißer, lackartiger Belag, im Stich weißer Faden. Am 10. Tage hat sich die Oberfläche des Impfstiches trichterförmig eingesenkt in Form flüssiger Gelatine, die nach 14 Tagen den Glasrand erreicht hat. Die Verflüssigung schreitet nur langsam fort. An der Grenze der getrühten, flüssigen und der festen Gelatine lagert ein grauweißes Sediment.

Schräger Agar: Schleimiger, weißer, glänzender Belag mit ebensolchem Bodensatz.

Bouillon: Nach 24 Stunden getrübt, mit weißgrauem Bodensatz, der sich beim Schütteln vollständig abhebt. Keine Häutchenbildung.

Milch: Nicht geronnen.

Pathogenität: Nach subkutaner Injektion bei Meerschweinchen und Kaninchen entstehen Abscesse, die Staphylokokken in Reinkultur enthalten.

Die intraperitoneale Injektion von 5 ccm bei einem Meerschweinchen ist resultatlos. Einem Kaninchen wurde 1 ccm Bouillonkultur intravenös injiziert. Es stellten sich keine Veränderungen ein.

Nach subkutaner Injektion von $\frac{1}{2}$ ccm Bouillonkultur bei einer Maus trat nach 2 Tagen der Tod ein. Die Sektion ergab: Sulzige Infiltration der Unterhaut.

Kultur 2.

Agarplatte: Wie Kultur 1.

Gelatineplatte: Nach 24 Stunden kleine, runde, weiße, lackartige Punkte, die sich nur langsam vergrößerten. Ein Verflüssigungshof tritt nicht auf.

Gelatinestich: Ueppiges Wachstum auf der Oberfläche in Form eines weißglänzenden Belages und im Stich in Streifenform. Verflüssigung nach 6 Wochen nicht eingetreten.

Schräger Agar: Wie Kultur 1.

Kartoffel: Wie Kultur 1.

Serum: Wie Kultur 1.

Bouillon: Nach 24 Stunden getrübt, mit weißem Bodensatz, der sich beim Schütteln zum Teil abhebt und die Flüssigkeit in Fadenform durchzieht, zum Teil haften bleibt. Auf der Oberfläche hat sich ein dünnes, grauweißes Häutchen gebildet.

Milch nach 6 Tagen geronnen, wenig Serum ausgeschieden.

Pathogenität: Nach subkutaner Injektion entstanden bei Meerschweinchen und Kaninchen Abscesse, Staphylokokken in Reinkultur enthaltend.

Nach intraperitonealer Injektion von 5 ccm bei einem Meerschweinchen trat der Tod nach 4 Tagen ein. Die Sektion ergab: Kadaver etwas aufgetrieben. Im freien Raume der Bauchhöhle findet sich gelbe, trübe Flüssigkeit, Peritoneum ist stark gerötet, die Blutgefäße desselben sowie des Darmes stark injiziert. In der Bauchhöhle sind Staphylokokken in Reinkultur enthalten.

Einem Kaninchen wurde 1 ccm Bouillonkultur intravenös injiziert. Das Tier blieb gesund, es zeigte keine krankhaften Veränderungen.

Sind durchgreifende Unterschiede der Staphylokokken des Menschen und des Rindes vorhanden?

Bei Besprechung der obigen Frage darf ich besonders auf diejenigen Punkte Bezug nehmen, welche in der Literatur als Unterschiede zwischen Menschen- und Rinderstaphylokokken bemerkt sind. Das Verhalten beider auf festen Nährböden ist nach meinen Untersuchungen durchaus gleichartig. Beide bilden einen schleimigen, lackartigen Belag von weißer resp. goldgelber Farbe. Auch in den sonstigen Kulturmerkmalen sind keine Unterschiede zwischen ihnen festzustellen, und sie halten sich auch beide monatelang lebensfähig, ohne daß man sie zu übertragen braucht. Was die Verflüssigung der Gelatine anbelangt, so verhalten sie sich auch in dieser Hinsicht konform. Die Rinderstaphylokokken verflüssigten von 36 Fällen 32mal die Gelatine, die menschlichen von 5 Fällen 4mal. Hieraus folgt, daß der bislang gemachte Hauptunterschied zwischen den menschlichen und den Rinderstaphylokokken, nämlich das Fehlen der Verflüssigung der Gelatine, bei letzteren als nicht zu Recht bestehend angesehen werden kann, und daß das zuweilen vorkommende Fehlen der Gelatineverflüssigung nicht berechtigt, eine besondere Art abzutrennen. Milch wurde mit zwei Ausnahmen von Rinderstaphylokokken und mit einer Ausnahme von den menschlichen regelmäßig zur Gerinnung gebracht. Auch hier also wechselt bei beiden das Verhalten und es ergibt sich kein Unterschied. Bouillon wurde von den menschlichen Staphylokokken sowohl wie von denen des Rindes nach 24 Stunden getrübt. Es bildete sich ein Bodensatz, der sich bei beiden beim Umschütteln in Fäden- resp. Flockenform abhob resp. zuweilen am Boden haften blieb. Ein Unterschied war hierin nicht zu beobachten. Der Unterschied, daß die Rinderkokken eine blaßgelbe Farbe zeigen sollen, war von mir auch

nicht zu bestätigen, denn ich fand tief goldgelbe Kokken 7mal und blässere nur 3mal. Was nun die Virulenz anbetrifft, so konnte ich durch subkutane Injektionen bei Meerschweinchen und Kaninchen mit Bouillonkulturen der Staphylokokken des Rindes regelmäßig Abscesse hervorrufen, ebenfalls war dasselbe mir mit den menschlichen möglich. Nach intraperitonealer Injektion bei Meerschweinchen trat durch die Rinder- ebenso wie durch Menschenstaphylokokken oft der Tod ein, zuweilen war die Injektion ohne Effekt. Weiße Mäuse starben in 1 bis 3 Tagen. Kaninchen waren durch die von mir vorgenommenen intraperitonealen Injektionen weder durch menschliche noch durch Rinderstaphylokokken zu töten. Die intravenöse Injektion von menschlichen und Rinderstaphylokokken verursachte keine Erkrankung. Die Tiere blieben am Leben. Im Gegensatze hierzu stehen die literarischen Angaben über die Wirkung der intravenösen Injektionen mit menschlichen Staphylokokken. Denn es sollen die Kaninchen hierbei an Pyämie zu Grunde gehen. Diese Angaben hinsichtlich des Kaninchens konnte ich bei meinen Versuchen mit den menschlichen also nicht bestätigen. Alle von mir geprüften menschlichen und Rinderstaphylokokken verhielten sich hinsichtlich der Virulenz gegenüber den kleinen Versuchstieren durchaus gleich. Alles zusammengefaßt: Ich habe keinen Unterschied finden können, der berechtigt wäre, in den Rinderstaphylokokken von denjenigen des Menschen abweichende Keime zu sehen.

Die Tuberkelbacillen in den erweichten tuberkulösen Herden des Rindes.

Nach Prüfung der Staphylokokken der erweichten tuberkulösen Herde will ich die Untersuchungen über das Verhalten der Tuberkelbacillen in denselben anschließen. Insbesondere interessierten mich die Fragen, ob Tuberkelbacillen regelmäßig in ihnen vorkommen und ob dieselben ihre pathogenen Eigenschaften bewahrt haben. Von Kulturversuchen habe ich dabei aus erklärlichen Gründen abgesehen, sondern mich mit dem mikroskopischen Nachweis und der Tierimpfung begnügt. Letztere nahm ich in allen Fällen vor, in denen die mikroskopische Untersuchung ein negatives oder zweifelhaftes Resultat hinsichtlich der Anwesenheit der Keime ergab. Mikroskopisch glückte der Nachweis in 19 Fällen, in den übrigen 13 Fällen erfolgte die subkutane Verimpfung einer ca. erbsengroßen Portion der erweichten Masse an der Innenfläche eines Hinterschenkels bei Meerschweinchen.

Impfversuche an Meerschweinchen.

Fall 2.

Nach subkutaner Uebertragung der in der linken Kniefaltendrüse enthaltenen eiterähnlichen Masse an der Innenfläche des rechten Hinterschenkels eines Meerschweinchens erkrankte dasselbe an Tuberkulose. Nach 34 Tagen wurde das Tier getötet. Die Sektion ergab: Impfstelle stark geschwollen und gerötet, mit eiterigem Sekret bedeckt. Die rechte Kniefaltendrüse taubengroß, mit käsig-eiterigem, graugelbem Inhalte angefüllt. Milz, Leber und Lunge sind mit zahlreichen, hirsekorngroßen, grauweißen Knötchen durchsetzt. Tuberkelbacillen in ihnen vorhanden.

Fall 7.

Ein Meerschweinchen wurde subkutan an der Innenfläche des rechten Hinterschenkels mit der schmierig-eiterigen Masse geimpft. Dasselbe wurde nach 32 Tagen getötet. Die Sektion ergab: Die Impfstelle ist stark gerötet, mit einer schmutziggelben Materie bedeckt. Die rechte Kniefalten- sowie rechte Darmbeindrüse mit zahlreichen, grauweißen Knötchen mit käsigem Inhalt angefüllt. Mikroskopisch zahlreiche Tuberkelbacillen in ihnen aufzufinden.

Fall 8.

Ein Meerschweinchen wurde subkutan mit dem eiterig-schleimigen Inhalte geimpft. Nach 29 Tagen wurde es getötet. Die Sektion ergab: Die Impfstelle ist geschwollen und mit einem Geschwür versehen. Das umliegende Gewebe ist wässrig durchtränkt. Rechte Kniefalten- und rechte Darmbeindrüse mit einer käsig-eiterigen, grauweißen Masse angefüllt. Milz, Leber und Bronchialdrüsen mit zahlreichen, hirsekorngroßen, grauweißen Knötchen durchsetzt. In diesen sowie in der rechten Kniefalten- und Darmbeindrüse zahlreiche Tuberkelbacillen nachgewiesen.

Fall 10.

Nach subkutaner Uebertragung der rahmartigen Masse an der Innenfläche des rechten Hinterschenkels eines Meerschweinchens erkrankte dasselbe an Tuberkulose. Nach 30 Tagen wurde es getötet. Die Sektion ergab: Schwellung und Rötung der Impfstelle, dieselbe mit einem schmierigen, eiterigen Sekret bedeckt. Die rechte Kniefaltendrüse ist taubeneigroß, mit einem gelblich-grauen, bröckeligen Inhalte angefüllt. Milz, Leber mit zahlreichen, hirsekorngroßen, grauweißen Knötchen durchsetzt, die Tuberkelbacillen in großer Menge enthalten.

Fall 11.

Mit dem salbenartigen Inhalte der Bronchialdrüse wurde ein Meerschweinchen subkutan geimpft. Dasselbe wurde nach 30 Tagen getötet, und es war, wie die Sektion ergab, mit Tuberkulose behaftet. Die Impfstelle war geschwollen, mit einem eiterigen Ausflusse bedeckt. Die rechte Kniefalten- und Darmbeindrüse klein-taubeneigroß, mit einem gelblich-grauen, käsigen Inhalte angefüllt. Milz und Leber mit zahlreichen hirsekorngroßen, grauweißen Knötchen durchsetzt, die ebenso wie die Kniefalten- und Darmbeindrüsen im mikroskopischen Präparate Tuberkelbacillen erkennen lassen.

Fall 14.

Ein Meerschweinchen wurde mit der rahmartigen Masse subkutan an der Innenseite des rechten Hinterschenkels infiziert. Nach der am 28. Tage erfolgten Tötung zeigte es sich an Tuberkulose erkrankt und zwar wurde folgendes festgestellt: Injektionsstelle gerötet, mit einem eiterigen Sekret bedeckt. Rechte Kniefalten- und Darmbeindrüse geschwollen, mit grauweißem, käsigem Inhalt angefüllt. Milz, Leber und Bronchialdrüse geschwollen, mit zahlreichen hirsekorngroßen, grauweißen Knötchen durchsetzt, in denen zahlreiche Tuberkelbacillen mikroskopisch aufgefunden wurden.

Fall 16.

Mit dem breiigen Inhalte wurde ein Meerschweinchen subkutan geimpft. Nach 30 Tagen wurde es getötet. Die Sektion ergab: Umgebung der Impfstelle stark geschwollen und gerötet, mit einem schmierig-eiterigen Ausflusse bedeckt. Rechte Kniefalten- und Darmbeindrüse taubeneigroß, mit grauweißem, käsigem Inhalte angefüllt. Bronchialdrüse, Milz und Leber sind stark geschwollen und durchsetzt mit zahlreichen grauweißen, hirsekorngroßen Knötchen. In ihnen sowie in der Kniefalten- und Darmbeindrüse konnte ich Tuberkelbacillen nachweisen.

Fall 17.

Ein Meerschweinchen wurde mit dem käsig-eiterigen Inhalte subkutan an der Innenfläche des rechten Hinterschenkels infiziert. Nach 29 Tagen wurde es getötet. Die Sektion ergab: Schwellung der Impfwunde und dieselbe mit einer grauen, eiterigen Masse bedeckt. Die rechte Kniefalten- sowie Darmbeindrüse sind geschwollen und mit stecknadelkopfgroßen, grauweißen Knötchen durchsetzt. Bronchialdrüse ebenso verändert. Die Milz und Leber sind geschwollen und mit zahlreichen hirsekorngroßen, grauweißen Knötchen durchsetzt. Tuberkelbacillen wurden in ihnen in großer Menge aufgefunden.

Fall 18.

Mit der käsig-eiterigen Masse wurde ein Meerschweinchen subkutan geimpft. Nach 30 Tagen wurde es getötet. Die Sektion ergab folgendes: Der Impfstich ist mit einem eiterigen Sekrete bedeckt, das umliegende Gewebe stark sulzig infiltriert. Milz und Leber sind mit zahlreichen hirsekorngroßen Knötchen durchsetzt, die Tuberkelbacillen sehr zahlreich enthalten.

Fall 24.

Mit der in der Bugdrüse sich vorfindenden rahmartig-käsigen Masse wurde ein Meerschweinchen subkutan am rechten Hinterschenkel infiziert. Nach 30 Tagen wurde es getötet und folgendes durch die Sektion festgestellt: Die Impfstelle ist geschwollen und mit einem eiterigen Sekret bedeckt. Die rechte Kniefaltendrüse ist haselnußgroß,

mit hirsekorngroßen, grauweißen, käsigen Herden durchsetzt. Die Milz ist geschwollen. In ihr sowie in der Leber und den Bronchialdrüsen finden sich zahlreiche grauweiße, stecknadelkopfgroße Knötchen. Tuberkelbacillen sind in all diesen Knötchen zahlreich nachgewiesen.

Fall 25.

Ein Meerschweinchen wurde mit der käsig-zähen Masse subkutan geimpft. Es wurde nach 28 Tagen getötet. Die Sektion ergab: Die Impfstelle ist gerötet und die Wunde nicht verheilt, geschwürig, mit einem eiterigen Ausflusse bedeckt. Die rechte Kniefaltendrüse sowie Darmbeindrüse sind haselnußgroß, mit einem käsigen, grauweißen Inhalt angefüllt. Die Milz ist mit vielen hirsekorngroßen, grauweißen Knötchen durchsetzt, die Tuberkelbacillen in großer Anzahl enthalten, wie mikroskopisch nachgewiesen.

Fall 27.

Mit der käsig-eiterigen Masse wurde ein Meerschweinchen subkutan an der Innenfläche des rechten Hinterschenkels infiziert. Nach 30 Tagen wurde es getötet und zeigte sich mit Tuberkulose behaftet. Die Sektion ergab: Die Impfwunde ist geschwollen und mit einem eiterigen Ausflusse bedeckt. Die rechte Kniefaltendrüse ist haselnußgroß, mit grauweißem, käsigem Inhalt angefüllt. Die Milz und Leber sind geschwollen und beide, ebenso wie die Bronchialdrüse, mit zahlreichen stecknadelkopfgroßen, grauweißen Knötchen durchsetzt. In diesen Knötchen sowie in der Kniefaltendrüse konnte ich Tuberkelbacillen feststellen.

Fall 29.

Mit der in der Kniefaltendrüse enthaltenen käsig-eiterigen Masse wurde ein Meerschweinchen subkutan geimpft. Nach 30 Tagen wurde es getötet. Die Sektion ergab: Die Umgebung der Impfstelle ist stark geschwollen und mit einem schmierig-eiterigen Sekrete bedeckt. Die rechte Kniefaltendrüse und Darmbeindrüse sind taubeneigroß und angefüllt mit einem käsigen, gelblichen Inhalte. Die Milz ist geschwollen und, wie ebenfalls die Leber, mit zahlreichen stecknadelkopfgroßen, grauweißen Knötchen durchsetzt, die im mikroskopischen Präparate Tuberkelbacillen in großer Zahl erkennen lassen.

Resultate der vorigen Versuche.

Was das Vorkommen der Tuberkelbacillen anbelangt, so waren dieselben in den erweichten tuberkulösen Herden des Rindes stets vorhanden. In der Mehrzahl der Fälle (19) konnte ich, wie schon oben erwähnt und aus meiner Arbeit ersichtlich ist, dieselben bereits in Ausstrichpräparaten nachweisen. Wo dieses letztere nicht der Fall war, ließ sich die Anwesenheit derselben sicherstellen durch die Erfolge der subkutanen Uebertragung auf Meerschweinchen. Letztere erkrankten regelmäßig, von der Impfstelle ausgehend, an Tuberkulose, wobei es mir jedesmal gelang, in den Knötchen Tuberkelbacillen nachzuweisen. Es folgt aus diesen Ergebnissen, daß die Erweichung der tuberkulösen Herde nicht mit einem Untergange der Tuberkelbacillen einhergeht, sondern daß die letzteren ihre Virulenz erhalten. Außerdem zeigen die Resultate, daß die Tierimpfung ein sichereres Mittel zum Nachweise des Tuberkelbacillus ist als der mikroskopische Befund.

Schlussbetrachtungen.

Als Schlußresultat meiner Untersuchungen verzeichne ich die Tatsache, daß in den erweichten tuberkulösen Herden des Rindes sich regelmäßig virulente Tuberkelbacillen und Staphylokokken vorfinden und zwischen letzteren und denjenigen des Menschen keine Unterschiede zu machen sind. Aus diesem Grunde muß man den Vorschriften des Fleischbeschaugesetzes durchaus beistimmen, wenn es eine differente Behandlung des Fleisches tuberkulöser Tiere danach festlegt, ob Erweichungsherde vorhanden sind oder nicht, denn in ersterem Falle ist mit 2 pathogenen Keimen zu rechnen. In hygienischer Hinsicht sind

also diese Bestimmungen des Reichsgesetzes vom 3. Juni 1903 durchaus berechtigt und mit Genugtuung zu begrüßen. Damit habe ich die mir gestellte Aufgabe, Klarheit in diese Frage durch Schaffung einer wissenschaftlichen Basis für die Beurteilung zu bringen, in den wesentlichsten Punkten gelöst.

Ergebnisse.

Die wichtigsten Resultate meiner Untersuchungen sind, kurz zusammengestellt, folgende:

1) In den erweichten tuberkulösen Herden des Rindes sind Tuberkelbacillen regelmäßig vorhanden.

2) Neben den Tuberkelbacillen finden sich in den erweichten tuberkulösen Herden weiße und gelbe Staphylokokken.

3) Die pyogenen Staphylokokken des Rindes sind morphologisch und biologisch von den menschlichen nicht zu unterscheiden.

Die vorstehende Arbeit ist in der bakteriologischen Station des Hamburgischen Veterinärwesens (Leiter: Herr Polizeitierarzt Glage) angefertigt. Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Polizeitierarzt Glage für das rege Interesse, sowie für die freundliche Unterstützung bei der Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Literatur über die Eiterkokken des Rindes.

- De Jong, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXV. 1899. p. 13.
Glage, Die Eiterungen bei den Haustieren. (Handb. d. pathog. Mikroorg. v. Kolle u. Wassermann. Jena 1903.)
Künemann, Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. 1903. p. 128.
Lucet, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. VII. 1893. p. 325 und Rec. de méd. vét. 1893. p. 273.

Nachdruck verboten.

Zur Morphologie und Biologie des Mikroben der Bubonenpest und des Pseudotuberkulosebacillus der Nagetiere (*Bac. pseudotuberculosis rodentium* Pf.).

[Aus dem Laboratorium „Fort Alexander I.“ des Instituts f. experim. Medizin zu St. Petersburg.]

Von Privatdozent Dr. S. J. Zlatogoroff.

(Fortsetzung.)

Betrachten wir nun, welche Veränderungen die auf flüssige Nährmedien verimpften Pestmikroben erfahren, wenn sie unter den für sie günstigsten Bedingungen gedeihen.

Nimmt man ein Probiergläschen oder einen Kolben mit ganz klarer Bouillon und infiziert man dieselbe mit einem Tropfen Blut oder Organflüssigkeit aus einem Pestkadaver, so gewahrt man in denselben schon nach 8—10-stündigem Stehen im Brütschranke ein die Flüssigkeit trübendes Wölkchen. Hierauf werden in der Flüssigkeit oder an den Wänden des Glasgefäßes mehrere feinste Körnchen von weißgrauer Färbung be-

merkbar, welche allmählich an Zahl und an Dimensionen zunehmen, und schon nach 24 Stunden sieht man die Bouillon von Klümpchen durchsetzt, welche zum Teil in der Flüssigkeit suspendiert sind, zum Teil den Gefäßwänden anhaften; letztere erinnern ihrem Aussehen nach an Wattebäuschchen. Schüttelt man das Gefäß, so trübt sich die Flüssigkeit, läßt man es jedoch dann stehen, so klärt sie sich wieder. Mit fortschreitender Wucherung der Kultur wächst die Zahl der Bakterienklümpchen an, sie fallen zum Teil zu Boden, zum Teil aber haften sie an der Oberfläche der Flüssigkeit der Gefäßwand an und bilden hier einen Ring. War die Kultur in einem Probierröhrchen enthalten, so erhält man nach einigen Wochen eine ganz klare Flüssigkeit mit einem mehr oder weniger kopiösen Bodensatze und einem der Gefäßwand anhaftenden Ring oberhalb der Oberfläche der etwas eingegangenen Flüssigkeit. War die Bouillonkultur jedoch in einem Kolben, welcher mehrere Wochen ruhig gestanden hatte, enthalten, so wuchern die anfangs in der Flüssigkeit zerstreuten Klümpchen zu vertikalen Streifen, welche von der Flüssigkeitsoberfläche bis zu dem mit einem Niederschlag bedeckten Gefäßboden hinziehen. Diese Streifen bilden bekanntlich die für Pestmikroben charakteristischen „Stalaktiten“. In sehr alten Kolbenkulturen, welche mehrere oder sogar viele Monate gestanden haben, verschwinden die Stalaktiten und klärt sich die Flüssigkeit, während sich am Boden des Gefäßes ein reichlicher flockiger Niederschlag bildet; die Flüssigkeitsoberfläche bedeckt sich hierbei oftmals mit einer dünnen, öligen Schicht.

Alte Kulturen besitzen einen schwer zu bestimmenden, eigenartigen Geruch, welcher zum Teil an den Geruch eines faulen Eies, zum Teil an denjenigen von faulendem Fleisch oder Fisch erinnert.

Bei mikroskopischer Untersuchung von Bouillonkulturen kann man eine für den Pestbacillus sehr charakteristische und beständige Eigentümlichkeit beobachten, nämlich die sehr frühzeitig eintretende Bildung von Kettenformen, dank welchen der Bacillus zum Streptobacillus wird. Schon mehrere Stunden nach der Impfung entstehen aus den einzelnen, bei der Infektion in die Bouillon verimpften Bakterien Ketten, welche aus mehreren, zu 2—3—4 Exemplaren in gerader Linie angeordneten Stäbchen bestehen. Je mehr Zeit von dem Momente der Infektion verfließt, desto zahlreicher und länger werden die Ketten, und in 24—48-stündigen Kulturen sind bereits sehr zahlreiche Ketten enthalten, während vereinzelte Stäbchen nur selten vorkommen. Später, nach 3—4—5 Tagen, nehmen die Ketten sowohl an Zahl, als auch an Dimensionen noch mehr zu, zugleich aber kommen auch mehr vereinzelte Exemplare, deren Zahl infolge Zerfalls der Ketten zunimmt, vor. Bei protrahierter Züchtung (im Laufe von mehreren Monaten) vermindert sich die Zahl der Ketten immer mehr, und schließlich enthält die Flüssigkeit nur vereinzelte Exemplare, welche sich schlecht färben und das Aussehen von Stäbchen mit undeutlichen Umrissen besitzen. Nach 1½ Jahren kann man in einer solchen Bouillonkultur bei gewöhnlicher Färbung mit Anilinfarben nur mit Mühe unregelmäßig geformte Stäbchen mit Körnern, welche etwas an die frühere bipolare Färbung erinnern, feststellen. Gewöhnlich stellen diese Körner den einzig noch Färbung annehmenden Teil der Mikrobenüberbleibsel dar.

Dieses sind in kurzen Zügen die charakteristischen Merkmale des in Nährbouillon unter den möglichst günstigen Bedingungen gedeihenden Pestmikroben.

Wie gestaltete sich nun das Wachstum der verschiedenen Pestkulturen in der Nährbouillon und boten dieselben in dieser Beziehung irgend welche wesentliche Unterschiede?

Bei Infektion von in Kolben oder Probierröhrchen enthaltener Nährbouillon konnte schon nach 16 Stunden deutliches Wachstum, dessen Intensität je nach der Kultur wechselte, wahrgenommen werden. Sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch boten in den ersten Tagen sämtliche 22 Kulturen keine Unterschiede. Nur mit der Zeit traten für einige Kulturen derartige Unterschiede zu Tage; in allen Fällen konnten jedoch die Trübung der Nährbouillon, die Bildung von Bodensatz und Oberflächenhäutchen, die Entstehung von Ketten und ihr Zerfall in alten Kulturen, welche in Kolben gezüchtet wurden, ganz besonders gut beobachtet werden. Trotz den geringen Unterschieden, welche in den Bouillonkulturen von Mikroben verschiedener Abstammung festgestellt werden konnten, erwiesen sich alle 22 Grundkulturen ihren wesentlichen Eigenschaften nach als sehr ähnlich: sie wuchsen alle in der Bouillon in Flocken (nach 24—48 Stunden), welche sich in der ganzen Bouillonsschicht entwickelten (was Trübung derselben vortäuscht) und bildeten Ketten, die aus einzelnen, sich energisch bipolar färbenden Mikroben bestanden.

Um die Unterschiede im Wachstume der verschiedenen Kulturen möglichst exakt konstatieren zu können, muß man sie in nicht weniger als 500 ccm fassenden Kolben anlegen. Bei in Probierröhrchen angelegten Kulturen kann man die Unterscheidungsmerkmale makroskopisch nur in den ersten Tagen wahrnehmen; bei längerem Stehen gleichen sich die Unterschiede aus, die Bouillon klärt sich in allen Röhrchen, die Mikroben fallen zu Boden und bilden zum Teil in einiger Entfernung oberhalb der Flüssigkeit einen der Gefäßwand anhaftenden Ring. Unter dem Mikroskop behalten jedoch viele in Probierröhrchen angelegte Kulturen ihre charakteristischen Merkmale, welche bei Untersuchung von alten, in Kolben angelegten Kulturen so deutlich wahrzunehmen sind, bei. Verfolgen wir Schritt für Schritt das Wachstum von aus verschiedenen Grundkulturen angelegten Kolbenkulturen, so sehen wir, daß es ein verschiedenes ist. Während in den einen Kolben die Flüssigkeit von feinsten Partikelchen durchsetzt ist, welche ihr eine gleichmäßige Trübung verleihen, bilden sich in anderen zuerst in der Bouillon suspendierte und dann zu Boden fallende große Flocken, in noch anderen endlich haften die Flocken der Gefäßwand an und verbreiten sich von hier aus erst in der ganzen Flüssigkeit. Später klärt sich in den einen Kolben die Flüssigkeit sehr rasch und bildet sich ein reichlicher Bodensatz, während in den anderen ein Oberflächenhäutchen entsteht und sich die Flüssigkeit nur allmählich klärt. Die von der Flüssigkeitsoberfläche zum Gefäßboden hinziehenden Stränge (die sogenannten Stalaktiten) entwickeln sich in den verschiedenen Kolben durchaus nicht in gleichem Maße¹⁾. Bei ruhigem Stehen klärt sich in sämtlichen Kolben die Flüssigkeit nach 1—1½ Jahren, es bildet sich ein Bodensatz und über der Flüssigkeitsoberfläche ein aus der Gefäßwand anhaftenden Mikrobenkörpern bestehender Ring. Bei systematischer mikroskopischer Untersuchung derartiger sowohl junger als alter Kul-

1) Stalaktitenbildung ist in auf Schafffleischbouillon angelegten Kulturen rasch zu erzielen. Weiter unten soll nachgewiesen werden, daß Stalaktitenbildung nicht ein abschließendes Merkmal von Pestkulturen ist.

turen kann man leicht gewahren, daß im Laufe der ersten Tage und Wochen die Mikroben sich nicht voneinander unterscheiden: sie zeigen dieselbe Bildung von mehr oder weniger langen Ketten, dieselbe bipolare Färbung, später aber ändert sich das mikroskopische Bild in verschiedenen Kulturen in verschiedener Weise. Bald bilden die Mikroben Ketten (ebenso wie in jungen Kulturen), bald ist gar keine Kettenbildung zu gewahren, die Mikroben liegen vereinzelt und nur stellenweise paarweise da. Diese verschiedene Neigung zur Kettenbildung ist keine zufällige Erscheinung, da sie in einigen Kulturen häufiger zu beobachten ist als in anderen.

Fertigt man aus verschiedenen Kolben mit Kulturen von verschiedenem makro- und mikroskopischem Aussehen (z. B. 3 Monate alten) Ueberimpfungen auf Nährbouillon an, so kommen die verschiedenen Kulturen charakterisierenden Merkmale wiederum zum Ausdruck, und erst nach mehreren Ueberimpfungen gleichen sich alle Unterschiede aus, so daß die verschiedenen Bouillonkulturen von ganz gleicher Beschaffenheit sind.

Stehen nun die oben beschriebenen Unterscheidungsmerkmale der verschiedenen Bouillonpestkulturen in irgend welcher Beziehung zu ihrer Virulenz? Eine bestimmte Antwort auf diese Frage geben meine Versuche nicht. Aller Wahrscheinlichkeit nach bildet sich ein Oberflächenhäutchen häufiger in alten Kulturen der mindest virulenten Mikroben, und je virulenter der Bacillus ist, desto häufiger sieht man in seinen Kulturen kurze Ketten. Alle meine 22 Kulturen erwiesen sich in der Nährbouillon als gleich lebensfähig und wuchsen noch nach 20 Monaten in Ueberimpfungen vorzüglich (das makroskopisch sichtbare Wachstum hörte bereits nach 5—6 Wochen auf).

Wie bereits erwähnt, war das Wachstum der Pestmikroben auf Kalbsbouillon am üppigsten, weniger üppig war es auf Fleischbouillon und noch weniger auf Fischbouillon. Der Unterschied war nur ein quantitativer, die allgemeinen charakteristischen Merkmale des Wachstums aber blieben dieselben.

Zusatz von verschiedenen Substanzen zur Bouillon, welche das Wachstum vieler anderer Mikroben fördern (Glykose, Glycerin), wirkt entweder wenig auf die Energie des Wachstums ein (Glykose) oder hemmt dasselbe sogar (Glycerin). Spärlicher Glykosezusatz ($\frac{1}{2}$ —1 Proz.) förderte übrigens das Wachstum in unbedeutendem Maße¹⁾, bedeutender aber hemmte dasselbe ohne Zweifel. In Betreff des Glycerins muß bemerkt werden, daß der gewöhnliche Zusatz desselben (5—6 Proz.) und sogar ein geringerer (von 2 Proz. an) das Wachstum des Pestmikroben hemmt und daß bei bedeutenderer Konzentration desselben die Pestmikroben gar nicht gedeihen. Bei einem 2 Proz. nicht erreichenden Glyceringehalte äußert sich seine schädliche Wirkung schon in geringerem Maße.

Das Wachstum der Pestmikroben auf festen Nährböden.

Von festen Nährmedien, welche zur Züchtung und Aufstellung charakteristischer Merkmale der Pestmikroben geeignet sind, verdienen Agaragar und Gelatine vor allem beachtet zu werden; diese will ich in folgedessen genauer besprechen, während die übrigen festen Nährmedien (Kartoffel, Blutserum) nur beiläufig betrachtet werden sollen.

1) Dieses gilt nur für die Mehrzahl der Kulturen, für einige (z. B. die von Edington bezogene) erwies sich ein 1-proz. Glykosezusatz als schädlich.

Zur Verdünnung des Agaragars und der Gelatine eignet sich am besten Kalbs- oder Fleischbouillon (letztere in geringerem Grade), weniger gedeihlich für die Pestmikroben ist ein Zusatz von Fischbouillon. Impft man zu gleicher Zeit die drei eben erwähnten Agarsorten mit ein und derselben Pestkultur, so entwickeln sich auf dem Fischagar sehr feine, an Streptokokkenkolonien erinnernde (namentlich nach Verlauf von 24 Stunden ist diese Aehnlichkeit eine augenfällige), opake Kolonien, welche nicht untereinander konfluieren¹⁾. Auf Kalbs- und Fleischagar sind die Kolonien größer und das Wachstum üppiger.

Welches Aussehen bietet die typische Pestkultur auf Agar? Schon nach 18—24 Stunden kann man an der Agaroberfläche eine weißgraue Membran, welche bei durchgehendem Lichte bläulich abschimmert, in reflektiertem Lichte aber, namentlich an den Rändern, in allen Regenbogenfarben spielt. Die Membran besteht aus deutlich zu unterscheidenden einzelnen Kolonien, welche stecknadelkopfgroß sind und über die Agaroberfläche vorspringen. Betrachtet man die Membran durch die Lupe, so kann man schon nach 24 Stunden (später noch deutlicher) gewahren, daß ihre Ränder ausgebuchtet sind.

Die Bakterienmasse ist teigig und fadenziehend. Bei längerem Wachstum bilden sich zuweilen große Kolonien, welche die ursprünglichen kleinen bedecken; die Kultur nimmt nun einen gelbweißen Farbenton an und verliert ihr zartes Aussehen. Im Kondensationswasser bilden sich Flocken, welche die Flüssigkeit nicht trüben. Bei Untersuchung unter dem Mikroskop besitzen die tiefliegenden Kolonien unregelmäßig ovale oder runde Form, braune Färbung und grobkörnigen Bau; die oberflächlichen Kolonien sehen glänzend aus und erinnern an Glasplitter. Die Ränder der Kolonie sind deutlich ausgebuchtet und schillern in allen Regenbogenfarben. Bei Stichinfektion bilden sich längs dem ganzen Stichkanale Kolonien, näher zur Agaroberfläche ist das Wachstum üppiger; oben bedeckt eine knopfartig vorspringende Bakterienwucherung den Stichkanal.

Wie aus dieser Beschreibung hervorgeht, bietet das Wachstum des Pestbacillus auf Agaragar nichts von anderen Mikroben besonders Abweichendes; wie jedoch unten noch erwähnt werden soll, behalten die Kolonien ihr Aussehen bei weitem nicht immer bei. Dafür aber zeigt die Untersuchung des Pestbacillus aus Agarkulturen bedeutend mehr Charakteristisches, diesem Mikroben Eigenes. Die Verschiedenartigkeit der Pestbacillenformen, welche im tierischen Organismus so deutlich ausgeprägt ist, äußert sich in Agarkulturen um so prägnanter, je älter dieselben sind. Schon nach 24—48-stündiger Züchtung zeigt der Pestbacillus das Aussehen eines Kokkobacillus oder eines Coccus, welcher sich oftmals ungleichmäßig färbt; neben diesen trifft man in die Länge gezogene Stäbchen an, welche durchaus nicht an die Kokkobacillenformen erinnern. Schon nach einigen Tagen treten außer diesen Formen verschiedene Elemente von bedeutender Größe, phantastischer, unregelmäßiger Form: kugelförmige, birnen- oder hefeartige auf. Solche Riesenformen färben sich entweder in ihrer ganzen Ausdehnung oder nur teilweise.

Die Entwicklung derartiger Formen kann bedeutend beschleunigt

1) Unter dem Mikroskop unterscheiden sich die Mikroben von dem Fischagar in den ersten Tagen durchaus nicht von den auf Fleischagar wachsenden, nur im späteren Verlaufe bilden sich auf ersterem früher Involutionsformen.

werden, wenn man den Pestbacillus auf dem von Hankin vorgeschlagenen Nährmedium (mit 3-proz. Kochsalzgehalt) züchtet. Die Verschiedenartigkeit der Formen des Pestbacillus in Agarkulturen kann zuweilen bei der differentiellen Diagnose ausshelfen. Leider bietet das Wachstum des Pestmikroben auf Agarnährböden weder in makroskopischer noch in mikroskopischer Beziehung etwas Beständiges. Die von mir untersuchten 22 Kulturen lieferten den besten Beweis hierfür. Während die einen Kulturen sehr bald verschiedene polymorphe Individuen bilden, findet das bei anderen sehr spät oder gar nicht statt. Dasselbe muß auch von dem Aussehen der Kulturen gesagt werden; während die einen typisch wachsen, findet bei anderen sehr üppiges Wachstum schon nach 24 Stunden statt, sie wachsen in einer ununterbrochenen Schicht ohne wahrnehmbare Grenzen zwischen den einzelnen Kolonien, bei den dritten sieht man erst am 2.—3. Tage an Streptokokkenkolonien erinnernde mikroskopische Tröpfchen. Als Beispiel will ich die Beschreibung einiger Kulturen, welche ich beim vergleichenden Studium meiner verschiedenen, auf Agar gezüchteten Exemplare gemacht habe, wiedergeben.

Es versteht sich von selbst, daß bei diesem vergleichenden Studium der verschiedenen Mikroben nach Möglichkeit alle Vorsichtsmaßregeln ergriffen werden mußten, um Fehler zu vermeiden: es wurden die nämlichen Nährmedien genommen, ausgesät wurde gleichartiges Material und in annähernd gleicher Menge. Die Wachstumsenergie hängt zweifellos von dem ursprünglichen Impfmateriale ab: eine Impfung aus einem an der Pest gestorbenen Tiere und eine solche von auf künstlichen Nährmedien gezüchteten Kulturen ergibt verschiedene Resultate; im ersteren Falle wachsen die Kulturen weniger üppig und langsamer als im zweiten Falle.

22. Mai 1902. Es wurden 8 20-stündige Agarkulturen (Kolobowka, Bombay I und II, Tekebai, Paris I und II, Batum und Glasgow) untersucht. Typische Kokkenformen konnten nur in den aus der Glasgower und der Tekebaischen Kultur angelegten Ueberimpfungen festgestellt werden; in den übrigen fand ich nur dünne, in ihrer ganzen Ausdehnung gefärbte Stäbchen. Nach 3 Tagen untersucht, boten die Kulturen keine Unterschiede mehr.

Makroskopisches Aussehen der Agarkulturen nach 3 Tagen. Die Glasgower: einander eng anliegende, kleine Kolonien mit perlmutterartigen größeren, welche die kleinen bedecken; die Tekebaische: dasselbe Aussehen; die neue Bombayer: eng anliegende, kleine Kolonien ohne Riesenkolonien; die alte Bombayer: weniger zartes Aussehen, einzelne Kolonien wölben sich kuppelartig über die Oberfläche der Kultur; die Batumer: energische Wucherung; die Pariser: weniger üppiges Wachstum, einzelne Kolonien ragen über die Oberfläche hervor; die Oportosche: üppiges Wachstum eng aneinanderliegender, feinsten Kolonien.

Agarkulturen nach 26-stündigem Wachstum. Odessaer Rattenkultur: zusammenhängende, opaleszente Membran; außer Kokken kommen auch Riesenexemplare vor; aus 2—3 Elementen bestehende Ketten; gute, bipolare Färbung; Odessaer Kultur von einem ambulanten Kranken: besteht aus einzelnen kleinen Kolonien; viele von diesen mit gefärbtem Zentrum; aus 2—3 Stäbchen bestehende Ketten; bipolare Färbung; Odessaer Kultur von einem schweren Kranken: üppiges Wachstum; in die Länge gezogene Stäbchen; bipolare Färbung; Odessaer Kultur von einem Kranken mit putrider Pest: üppiges Wachstum mit einzelnen

opaleszenten, kleinen Kolonien; gut ausgeprägte, bipolare Färbung; viele Doppel-exemplare; die Färbung ist häufig im Zentrum am intensivsten ausgeprägt; viele in die Länge gezogene Stäbchen; Odessaer Kultur von einem leichten Kranken: große opaleszente Kolonien; viele in die Länge gezogene Bakterien-exemplare; lange Fäden, die im Zentrum und an den Enden gefärbt sind; Akssaische Kultur: üppiges Wachstum; große Kolonien; viele vereinzelte, intensiv färbbare Bakterien-exemplare; Akssaische Kultur von einem Kranken mit Pestmeningitis: üppiges Wachstum; eng aneinanderliegende, kleine Kolonien, viele vereinzelt, in die Länge gezogene Bakterien, die sich entweder im Zentrum oder bipolar färben; aus 3—4 Stäbchen entstandene Riesen-exemplare; Akssaische Kultur Sch.: üppiges Wachstum; kleine Kolonien; viele vereinzelt und Doppelstäbchen; einzelne von ihnen in die Länge gezogen; kokkenartige Formen; aus 3—4—5 Stäbchen entstandene Riesen-exemplare; Ut-Kuduksche Kultur: kleine Kolonien; intensive bipolare Färbung; viele vereinzelt und in die Länge gezogene Doppel-exemplare.

Bei weiterer Züchtung von Agarkulturen im Laufe von 5—6 Monaten (wobei natürlich Austrocknung ausgeschlossen werden muß) übertreffen die Kokkenformen alle übrigen an Zahl, in einzelnen Kulturen bleiben bipolare Färbung und zahlreiche, sich ungleichmäßig färbende, fadenförmige Riesen-exemplare gut erhalten.

Bei systematisch wiederholter Untersuchung von Agarkulturen, welche mehrere Tage bis viele Monate alt sind, läßt sich folgendes besondere Verhalten nachweisen: neben Kokkenformen nehmen die oft gegliederten Stäbchengebilde an Zahl nicht nur nicht ab, sondern sie werden im Gegenteil um so zahlreicher, je älter die Kultur ist, d. h. es herrscht ausgesprochene Neigung zur Bildung von Ketten- und Fadengebilden vor, was in den Bouillonkulturen, wo mit der Zeit die Ketten sogar in einzelne Exemplare zerfallen, nicht beobachtet werden konnte.

Vergleicht man die auf Agar gezüchteten 22 Kulturen, so kann man feststellen, daß sie mikroskopisch nach Verlauf eines gewissen Zeitraumes vom Momente der Impfung, ungefähr nach 3—4 Tagen, sowohl in ihrer Größe als auch in ihrer Form einander sehr stark ähneln. Eine Ausnahme bildete nur die Odessaer Rattenkultur, welche nach der ersten Impfung auf Agar Bildung sehr großer, zu zweien vereinigt Stäbchen zeigte: bereits nach den nächsten Ueberimpfungen unterschied sie sich jedoch von den übrigen nicht.

Glycerinzusatz zum Agaragar, welcher 2 Proz. nicht überstieg, beeinträchtigte das Wachstum der Kolonien nicht, Zusatz von Trauben- und Milchzucker aber hemmte dasselbe, selbst wenn er nur 2 Proz. betrug.

Auf Gelatine studierte ich das Wachstum der Pestmikroben sowohl in Probierröhrchen (Oberflächen- und Stichkulturen) als auch in Petrischen Schälchen. Ich verwandte 10 Proz. Gelatine und ließ die Kulturen bei 22° C stehen. Auf der Gelatine begann das Wachstum der Pestkolonien erst nach 2 Tagen, sein Maximum erreichte es nach 5—6 Tagen. Gelatineverflüssigung wurde nie beobachtet. Im allgemeinen war das Wachstum der Gelatinekulturen in allen Fällen fast das gleiche, es konnten nur quantitative Unterschiede festgestellt werden. In Stichkulturen sah ich nur einzelne Kolonien wuchern, die stellenweise miteinander konfluieren; die obere Oeffnung des Stichkanals

bedeckte eine knopfförmige Bakterienwucherung mit ausgebuchteten Rändern¹⁾. In Strichkulturen bildet sich an der Gelatineoberfläche ein trockenes, weißgelbes Häutchen, welches aus eng aneinanderliegenden Kolonien mit ausgebuchteten Rändern besteht. Die Kolonien zeigen starke Opaleszenz und erscheinen gleichsam wie durchlöchert. In Petrischen Schälchen erinnern 3–4-tägige Kolonien makroskopisch an Kolonien des *Coli-Bacillus*. Unter dem Mikroskop erscheinen die tiefliegenden Kolonien scharf umgrenzt und rund, die oberflächlichen glänzend, im Zentrum gekörnt, mit ausgebuchteten Rändern, welche in allen Regenbogenfarben schillern. Die Kolonien konfluieren nicht. Wie aus dieser Beschreibung erhellt, bietet auch das Wachstum auf Gelatine keine charakteristischen Anzeichen, durch welche der *Pestbacillus* von den übrigen Mikroben zu unterscheiden wäre.

Auf Kartoffeln gedeihen die Pestmikroben schlecht, sie bilden hier nach einigen Tagen eine kaum merkbare Membran (und selbst das bei Temperaturen, die nicht unter 26–24° C betragen). Fast alle meine Pestkulturen zeigten gleiches Wachstum auf Kartoffeln, nur einige von ihnen, wie die zwei Pariser und die von Edington bezogenen, wuchsen noch schlechter.

Auf geronnenem Kalbsblutserum wuchsen die Mikroben schon nach 24 Stunden als feine, stecknadelkopfgroße Kolonien von gelblicher Färbung. Nach 2 Tagen grenzten die Kolonien eng aneinander, wobei ihr freier Rand ausgebuchtet erschien. Das Serum wurde in keinem Falle verflüssigt. Das Wachstum aller meiner Pestkulturen auf geronnenem Blutserum war ein auffallend gleichartiges, die Kulturen ähnelten einander viel mehr als die verschiedenen Agar- oder Gelatinekulturen.

Während auf geronnenem Blutserum die *Pestbacillen* ziemlich gut gedeihen, vermehren sie sich auf flüssigem Blutserum (von Kalb, Pferd und Menschen) viel schwächer. Bringt man eine kleine Quantität *Pestbacillen* in ein solches Medium, so vermehren sie sich sehr schwach, bilden am Boden des Gefäßes stachelige Gebilde; ihr Wachstum ist unter diesen Bedingungen gehemmt. Nur bei großen Quantitäten der verimpften Mikroben vermehren sie sich in merklicher Weise, erscheinen aber immer noch am Boden des Gefäßes wie zusammengeklebt. Unter dem Mikroskop zeigen diese Kulturen dieselben Kettengebilde, welche in Bouillonkulturen zu verzeichnen waren.

Beim Studium des Wachstums von Pestmikroben auf festen Nährböden richtete ich mein besonderes Augenmerk auf Nährböden mit Kochsalzzusatz (nach Hankin bis zu 3 Proz.). Salzhaltige Nährmedien werden bekanntlich von vielen als für die Pestmikroben besonders geeignete angesehen; letztere bilden, wie angenommen wird, unter diesen Bedingungen verschiedene Involutionsformen, nach welchen man sie von morphologisch nahestehenden Bakterien unterscheiden kann. Daß Kochsalzzusatz zu Agaragar die Bildung verschiedener Involutionsformen des *Pestbacillus* fördert, darf nicht bezweifelt werden; dieses ist jedoch nicht für eine jede Pestkultur charakteristisch und kommt nicht nur dem *Pestbacillus*, sondern auch anderen Mikroben (wie z. B. dem *Bacillus*

1) Die Gelatinestichkulturen des *Pestbacillus* sollen nach einigen Autoren (Kassansky, Kriwoschein und Fuhrmann) ein charakteristisches Wachstum, welches an einen umgekehrten Tannenbaum erinnert (ganz wie bei Milzbrandbacillen), zeigen. Von den 22 mir zur Verfügung stehenden Kulturen zeigte nur Bombay I derartiges Wachstum; die übrigen wuchsen untypisch.

der Pseudotuberkulose der Nagetiere) zu, wie ich mich hiervon bei der diesbezüglichen Untersuchung meiner 22 Pestkulturen und verschiedener Kulturen anderer Bacillen überzeugen konnte¹⁾.

Wachstum auf zuckerhaltigen Nährmedien.

Ich habe bereits oben erwähnt, daß in gewissem Verhältnis zu den Nährmedien hinzugefügter Zucker das Wachstum des Pestmikroben beeinträchtigt. Bei geringem Zuckergehalte (unter 1 Proz.) wuchern die Mikroben üppig, ohne den Zucker zu zersetzen. Alle meine Pestkulturen wurden auf in Gärungskolben enthaltene Zuckerbouillon (0,5 bis 2 Proz. Trauben- oder Milchezucker) verimpft, und nicht ein einziges Mal konnte trotz Wiederholung der Versuche Alkoholgärung des Zuckers konstatiert werden. Da das negative Verhalten des Pestbacillus zu zuckerhaltigen Nährmedien ein wichtiges diagnostisches Merkmal darstellt, so machte ich den Versuch, diesen Bacillus an das Wachstum in zuckerhaltigen Medien anzupassen und ihm durch Symbiose mit einem den Zucker stark zersetzenden Mikroben auch die Fähigkeit der Zuckerspaltung zu verleihen. Pestkulturen wurden in Gemeinschaft mit dem Coli-Bacillus auf zuckerhaltigen Medien mit verschiedener Zuckerkonzentration gezüchtet und außerdem mit dem Coli-Bacillus zusammen Tieren injiziert. Trotz aller meiner Bemühungen behielt der Pestbacillus sein indifferentes Verhalten Zucker gegenüber bei, und diese Versuche beweisen noch einmal, wie konstant die wesentlichen biologischen Eigenschaften der Mikroben sind.

Wachstum des Pestbacillus auf Milch.

Zu diesen Versuchen verwandte ich Kuh- und Ziegenmilch. In der einen und der anderen vermehrten sich Pestbacillen sehr langsam, ohne sie zu koagulieren. Kontrollimpfungen mit dem Coli-Bacillus ergaben stets bereits am 2. Tage Milchgerinnung, während die Pestmilchkulturen wochenlang stehen konnten, ohne daß die Milch irgend welche physischen Veränderungen (Gerinnung, übler Geruch) zeigte.

Im Zusammenhange mit der Frage von den Veränderungen der Milch steht die Frage von den Veränderungen der Reaktion des Nährmediums, auf welchem die Pestmikroben wachsen. Trotzdem diese Frage scheinbar sehr leicht gelöst werden könnte, hat sie bis jetzt noch keine bestimmte Beantwortung gefunden: während die einen (Abel, Gladin) Uebergang der alkalischen Reaktion in saure beobachtet haben wollen, berichten andere (Gabritschewsky, Wladimoroff und Kressling, Gass) nur über eine Verstärkung der Alkaleszenz. Indem ich meine 22 Pestkulturen auf Nährmedien von verschiedener Alkaleszenz im Laufe geraumer Zeitabschnitte züchtete, konnte ich Schritt für Schritt die Veränderungen der Reaktion der Nährmedien verfolgen. Die Alkaleszenz wurde in Bouillonkulturen mit Phenolphthaleinlösung und Lackmuspapier bestimmt. In allen alten Kulturen (älter als 2—3 Monate) war die Reaktion für Lackmus eine stark alkalische, ganz gleich, welche Reaktion die Bouillon im Momente der Impfung zeigte. Nur eins steht fest, daß nämlich die Reaktion eine um so stärker alkalische wurde (unter sonst gleichen Bedingungen), je

1) Daß auch andere Bakterien auf salzhaltigem Agaragar Involutionsformen bilden, hierauf wurde auf der in Berlin am 20. Oktober 1899 abgehaltenen Sitzung, welche der Pestfrage gewidmet war (Centralbl. f. Bakt. etc. 1899. p. 719), hingewiesen.

weniger sauer die Reaktion der Bouillon im Momente der Impfung war. Was jedoch die Reaktion des Nährbodens in jungen Kulturen anbetrifft, so sprechen meine Beobachtungen dafür, daß ein und dieselbe Kultur unter möglichst gleichen Bedingungen nicht immer dieselbe Quantität von Alkalien ausscheidet. Es braucht nicht erst bemerkt zu werden, daß in verschiedenen Kulturen dieses in noch bedeutenderem Maße der Fall ist. Einige Beispiele sollen diese Angabe bekräftigen.

Versuch No. 1 vom 12. Juli. Eine schwach alkalisch reagierende Bouillon wurde mit der Batumer Pestkultur infiziert. Am 13. Juli Reaktion alkalisch, 14. Juli gleichfalls, 15. Juli alkalisch, 25. Juli stark alkalisch.

Versuch No. 2 vom 12. Juli. Schwach sauer reagierende Kalbsbouillon wurde mit der Batumer Pestkultur infiziert. Am 13. Juli Reaktion schwach sauer, 10. Juli gleichfalls, 25. Juli schwach alkalisch, 28. September alkalisch.

Versuch No. 3. Schwach alkalisch reagierende Fleischbouillon wurde mit der mongolischen sowie der von Edington, Wladimiroff und Rosario bezogenen Pestkultur infiziert. Am folgenden Tage ist die Reaktion eine schwach alkalische, nach 3 Tagen eine schwach saure, nach 8 Tagen eine amphotere und nach 15 Tagen eine deutlich alkalische.

Versuch No. 4. Eine schwach alkalisch reagierende Bouillon wurde mit der Bombayschen Pestkultur infiziert. Nach einigen Tagen war die Reaktion eine schwach saure; nach 3 Wochen reagierte die Bouillon stark sauer und dann schlug die Reaktion allmählich in eine alkalische um. Dieselben Erscheinungen konnten mit der Pariser Kultur I beobachtet werden.

Einige Kulturen ließen also zu Anfang Säureproduktion deutlich erkennen, während bei den meisten Kulturen Bildung von Alkalien im Vordergrund stand. Deshalb darf die eine oder die andere Veränderung der Reaktion des Nährbodens in jungen Pestkulturen nicht als Regel angesehen werden; ganz wie auch andere Mikroben (z. B. aus der Gruppe des *Coli-Bacillus*) hängen die Pestmikroben in der Ausarbeitung verschiedener Produkte ihrer Lebenstätigkeit vollkommen von den oftmals schwer zu bestimmenden Bedingungen der Nährmedien ab. Dieser Umstand erklärt wahrscheinlich auch die verschiedenen Angaben der diese Frage behandelnden Autoren. Jedenfalls muß von dem Pestbacillus vermerkt werden, daß er zuweilen, obzwar auch selten, zu Beginn seines Wachstums die anfänglich alkalische Reaktion des Nährbodens in eine saure umwandeln kann, daß diese letztere dann aber später wieder in eine stark alkalische umschlägt.

Die Indolreaktion fiel in allen Kulturen negativ aus. Zu dieser Reaktion wurden ausschließlich verschieden alte Kulturen auf Peptonwasser verwandt. Kontrollreaktionen mit dem Choleravibrio und dem *Coli-Bacillus* ergaben einen deutlichen Nachweis von Indol.

Ebenso übereinstimmende Ergebnisse erzielte ich auch in meinen Untersuchungen, welche die Beweglichkeit und die Fortpflanzung der Pestmikroben betrafen. In allen Kulturen erwiesen sich die Bacillen als unbeweglich und vermehrten sich ausschließlich durch Teilung. Sporenbildung konnte in keinem Falle festgestellt werden. Hiermit stimmt das Verhalten der Mikroben zu hohen Temperaturen vollkommen überein: bei 60° C gingen in flüssigen Medien meine Bakterien vollständig zu Grunde; zu diesen Versuchen wurde die mikrobienhaltige

Flüssigkeit in Kapillarröhrchen gesogen, welche sodann zugelötet und in auf 60° C temperiertes Wasser gelegt wurden; hier erwärmten sie sich sofort, wurden nach einiger Zeit herausgenommen und zerbrochen, sodann ihr Inhalt mit Bouillon vermengt. In einigen Versuchen gingen die Bacillen schon nach 2 Minuten zu Grunde. Die Ursache der verschiedenen Ergebnisse dieser Versuche lag natürlich darin, daß nicht jedesmal eine vollkommen gleichartige Emulsion ohne Bakterienklumpchen angefertigt werden konnte.

Die vergleichende Untersuchung der 22 Pestkulturen ergab also, daß ich es mit in morphologischer und biologischer Beziehung sehr nahestehenden, wenn nicht sogar identischen Individuen zu tun hatte. Es stehen uns noch einige biologische Reaktive zur Feststellung der Identität oder der Verschiedenartigkeit von Mikroben zur Verfügung. Einige Aufklärung über die Verwandtschaft zu untersuchender Mikroben kann das Studium der Produkte ihrer Lebenstätigkeit geben. So ist z. B. im speziellen für Choleravibrionen bekannt, daß die Produkte der Lebenstätigkeit der einen Art derselben für andere Arten ein unzuträgliches Medium darstellen; zu gleicher Zeit aber gedeihen andere Mikroben sehr gut auf Choleraprodukten. Indem ich dieselbe Methode an Pestbacillen anwandte, mußte ich vor allem feststellen, wann das Wachstum der Pestmikroben auf verschiedenen Nährböden aufhört. In Bouillonkulturen müssen hierfür 4—6—7 Wochen verstreichen, in Agarkulturen nur ca. 7 Tage. Wodurch wird der Stillstand im Wachstum bedingt? Hier stoßen wir auf eine höchst komplizierte Erscheinung, welche mindestens aus drei Komponenten, nämlich der Erschöpfung des Nährbodens, der Veränderung seiner Reaktion und der Anhäufung von schädlichen Bakterienprodukten, besteht. Alle diese Bedingungen kommen bei Züchtung von frischen Pestkulturen auf Nährböden (Bouillon oder Agar), auf welchen bereits früher andere Pestkulturen gewuchert hatten, zur Geltung. Tötet man eine alte Agarpestkultur mit Chloroform und wäscht man dieselbe von der Agaroberfläche sorgfältig ab, so wächst auf dieser weder derselbe noch ein anderer Pestbacillus mehr. Man braucht jedoch dieses Agaragar nur zu schmelzen und wieder gerinnen zu lassen, damit auf der neuen Agaroberfläche wiederum Pestmikroben gedeihen. Verleiht man dem Agarnährboden zudem aber noch eine schwach alkalische Reaktion, so wachsen auf diesem die Pestmikroben ganz wie auf einem gar nicht in Gebrauch gewesenen. In Agarkulturen macht sich also nur eine von den das Bakterienwachstum beeinträchtigenden Bedingungen, nämlich die Veränderung der Reaktion, deutlich bemerkbar. Von der Erschöpfung des Nährbodens kann man sich schwer ein Urteil bilden, die Anhäufung schädlicher Produkte aber kann nicht festgestellt werden, da sie sich nicht leicht in dem festen Nährboden verbreiten. In flüssigen Nährböden kann man dagegen die schädliche Einwirkung sämtlicher drei Bedingungen konstatieren. Filtriert man alte Bouillonpestkulturen und impft man das Filtrat mit Pestbacillen, so kann man nachweisen, daß sie auf demselben sehr schlecht gedeihen, namentlich wenn man zur Impfung nur eine geringe Menge Mikroben nimmt (z. B. in Bouillonkultur), und daß sie gegen die auf einem Kontrollbouillon-nährboden von gleicher Alkaleszenz geimpften Bacillen im Wachstume bedeutend zurückbleiben; andere Mikroben aber gedeihen auf solchen Filtraten ganz gut, vorausgesetzt, daß sie keine besonders genau festgestellte Reaktion des Nährbodens erfordern, wie z. B. Streptokokken oder Fraenkelsche Diplokokken.

Fügt man dem Pestfiltrat eine geringe Menge frischer Nährflüssigkeit hinzu, so wird das Wachstum der Mikroben wohl ein üppigeres, es bleibt aber immerhin doch hinter demjenigen in den Kontrollröhrchen zurück. Von Erschöpfung des Nährbodens kann hier schon deshalb nicht die Rede sein, weil andere Bakterien, außer den Pestbacillen, auf dem Filtrate vorzüglich gedeihen. Es muß also angenommen werden, daß an der Hemmung des Wachstums die ausgeschiedenen Stoffwechselprodukte schuld sind. Nimmt man ein Pestfiltrat und erhitzt es auf 60° C im Laufe einer Stunde, so wachsen auf diesem Filtrate Pestmikroben viel besser als auf einem nicht erhitzten Filtrate. Auch auf Hawkinscher Lymphe, welche (ohne Karbolsäurezusatz) lange gestanden hat und filtriert worden ist, wachsen die Pestmikroben besser als auf Filtraten von Pestkulturen, welche nicht über 4—5 Monate gestanden haben. Wahrscheinlich werden in dem erhitzten Filtrate und im Lymphfiltrate, welches lange gestanden hat, die schädlichen Stoffwechselprodukte zerstört, wodurch die Filtrate wieder für das Gedeihen des Pestmikroben geeignet werden.

Die Versuche, welche die Einwirkung von Filtraten auf Kulturen behandelten, wurden in der Weise vorgenommen, daß das Filtrat zu gleichen Teilen in gleichgroße Probierröhrchen gegossen wurde. In eine andere Reihe von Probierröhrchen, die zur Kontrolle dienten, wurde eine gleiche Menge Nährbouillon gegossen. Geimpft wurde aus verschiedenen Pestkulturen und sonstigen Kulturen nach Möglichkeit mit der gleichen Menge Impfmateriel. In einem anderen Versuche nahm ich das Filtrat einer anderen Pestkultur und impfte es wiederum. Von sonstigen Kulturen verwandte ich zu den Impfungen: den *Bac. typhi*, *coli*, *pyocyaneus*, *mirabilis*, den *Staphylococcus aureus*, den *Streptococcus pyogenes*, den *Pneumococcus*, den *Bac. anthracis*, Friedländer, *Bact. aërogenes*, *indicus*, *subtilis*, *proteus vulgaris*, den *Vibrio cholerae asiaticae*, den *Vibrio Finkler-Prior* und den *Bacillus* der Pseudotuberkulose der Nagetiere.

Auf Grund dieser Versuche kann ich behaupten, daß die Stoffwechselprodukte der mir zur Verfügung stehenden Pestmikroben augenscheinlich einander sehr nahe verwandt sind und durch Erhitzung auf 60° C (im Laufe einer Stunde) sowie bei langdauernder Einwirkung des Sauerstoffs zum Teil zersetzt werden.

Von anderen biologischen Reaktiven, welche für die Unterscheidung der verschiedenen Bakterienarten von viel bedeutenderem Werte sind, wandte ich die kreuzweise (aktive) Immunisation gegen verschiedene Mikroben, die (passive) Immunisation mit einem spezifischen Serum, das Pfeiffersche Phänomen in der Bauchhöhle und endlich die Phagocytenreaktion an.

Zu meinen Versuchen benutzte ich Meerschweinchen. Die kreuzweise aktive Immunisation wurde in der Weise vorgenommen, daß ich einer Reihe von Tieren eine mit Chloroform getötete Pestkultur von verschiedener Herkunft subkutan injizierte und die Tiere dann nach einigen Tagen mit der minimalen tödlichen Dosis einer anderen Pestkultur infizierte. Von den Kulturen wurden in dieser Weise erprobt: die aus der Mongolei, die Pariser I, die Kolobowsche, die Odessaer von dem putriden Kranken, die Odessaer Rattenkultur, die Rattenkultur von Edington, die Kultur aus Rosario und die Bombaysche II.

Diese Versuche ergaben, daß eine jede, von mir untersuchte Kultur

Immunität größeren oder geringeren Grades gegen Pestkulturen hervorrief.

Zur passiven Immunisation benutzte ich Antipestpferdeserum, welches im „Fort Alexander I.“ gewonnen worden war, sowie aus dem Institut Pasteur bezogenes. Nachdem ich die Serumquantität, welche ein Meerschweinchen gegen die Wirkung einer nach dem Serum oder gleichzeitig mit demselben einverleibten Pestkultur schützt, bestimmt hatte, infizierte ich eine Reihe von Tieren, welchen ein und dasselbe Schutzserum injiziert worden war, mit minimalen Quantitäten verschiedener Pestkulturen. In genügender Menge einverleibtes Pestheilserum rettete die Tiere stets vor dem Tode, während normales Pferdeserum oder Antidiphtherieserum, in der gleichen Menge einverleibt, durchaus keine Wirkung ausübte.

Dasselbe Pestimmunserum zeigte, mit Pestkultur vermischt und dann in die Bauchhöhle des Tieres injiziert, hier das Pfeiffersche Phänomen; vor der Kultur intraperitoneal injiziert, rief es lebhaftes Phagocytose nach Injektion von Pestmikroben hervor, ohne die Pfeiffersche Reaktion zu geben; ebensowenig wurde unter diesen Bedingungen Phagocytose nach intraperitonealer Injektion anderer Mikroben beobachtet.

Da das Pestheilserum, zu dessen Gewinnung nur einige der mir zur Verfügung stehenden Pestkulturen verwandt wurden, sich auch gegen andere Pestkulturen als spezifisch und heilwirkend erwiesen hatte, so konnte angenommen werden, daß sich auch in betreff der agglutinierenden und präzipitierenden Fähigkeit des Heilserums ähnliche Befunde erheben lassen würden. Meine Versuche bestätigten diese Annahme vollkommen.

Das Pestheilserum (vom Pferde gewonnen) agglutinierte¹⁾ alle meine Pestkulturen in größerem oder geringerem Grade, während normales

Tabelle I.

Auf Agglutination untersuchte Kulturen	Verdünnung des Pestheilserums c				
	1:10	1:50	1:150	1:300	1:500
Pestkultur Bombay I	+	+	+	+	+schw.R.
„ „ II	+	+	+	+schw.R.	—
„ Glasgow	+	+	+	+	+schw.R.
„ Oporto	+	+	+	+	+ „ „
„ Rosario	+	+	+	+schw.R.	—
„ Edinghton	+	+	+schw.R.	—	—
„ aus der Mongolei	+	+	+	+schw.R.	—
„ Aksai Sch.	+	+	+	+	+
„ „ K.	+	+	+	+	+schw.R.
„ Odessaer Rattenkultur	+	+	+	+	+ „ „
„ „ putride	+	+	+	+	+ „ „
„ „ ambulante	+	+	+	+	+ „ „
„ Kolobowka	+	+	+	+schw.R.	—
„ Batum	+	+	+	+	—
„ Tekebai	+	+	+	+	+schw.R.
„ Odessa, leicht	+	+	+	+	+
„ Paris I	+	+	+	+schw.R.	—
Kultur der Pseudotuberkulose d. Nager J.	+	+	+	+	—
„ des Bact. coli	—	—	—	—	—
„ „ Bac. typhi	—	—	—	—	—
„ „ Pseudotuberkulosebacillus K	+	+	+	+	? +

1) Die Agglutinationsreaktion wurde makroskopisch mit einer Emulsion von Agarpestkulturen angestellt.

Pferdeserum dieselben entweder gar nicht agglutinierte oder die Reaktion mit ihm nur in Verdünnungen von 1:1 oder (selten) 1:2 positiv ausfiel. Die entsprechenden Zahlenwerte sind in Tabelle I, II und III wiedergegeben.

Tabelle II.

Auf Agglutination untersuchte Kulturen	Verdünnung des Pestheilserums a				
	1:10	1:50	1:100	1:200	1:300
Pestkultur Edington	+	+	+	—	—
„ Kolobowka	+	+	+	?	—
„ Akssai Sch.	+	+	+	+	+schw.R.
„ Odessaer putride	+	+	+	+schw.R.	—
„ Bombay I	+	+	+	+	+
„ „ II	+	+	+	+schw.R.	—
„ Batum schwache	+	+	+	+	—
„ „ starke	+	+	+	„ „	—
„ aus der Mongolei	+	+	—	„ „	—
Kultur des Bac. pseudotuberculosis	+	+	+	+	+schw.R.
„ „ Bact. coli	—	—	—	—	—

Tabelle III.

Auf Agglutination untersuchte Kulturen	Verdünnung des Pestheilserums b				
	1:10	1:50	1:100	1:160	1:200
Pestkultur Batum	+	+	+	+schw.R.	—
„ Akssai Sch.	+	+	+schw.R.	—	—
„ Usch. Kuduk.	+	+	+	+schw.R.	—
„ Kolobowka	+	+	+	+	+schw.R.
„ Tekebai	+	+	+schw.R.	—	—
„ aus der Mongolei	+	+	„ „	—	—
„ Odessaer ambulante	+	+	+	+schw.R.	—
„ Oporto	+	+	+	„ „	—
„ Glasgow	+	+	+	„ „	—
Kultur des Bac. pseudotuberculosis	+	+	+	+schw.R.	+schw.R.
„ „ Bact. coli	—	—	—	+	—

Wie aus den Tabellen ersichtlich, war die Agglutinationskraft der Sera keine bedeutende (nicht über 1:500), wie das überhaupt bei der Pest der Fall ist. Ein die Reaktion bei der Pest jedoch begünstigender Umstand ist der, daß man sie mit jeder Pestkultur erzielen kann, was natürlich in praktischer Beziehung von sehr großem Werte ist. Von anderen Mikroben (*Bac. typhi* und *B. coli*) wissen wir ja, daß ein spezifisches Serum oft den entsprechenden Bacillus nicht agglutiniert, wenn er nicht aus demselben Organismus, von dem das Serum gewonnen wurde, ausgeschieden worden ist. Daß bei der Pest dagegen das Serum Pestmikroben verschiedenen Ursprungs agglutiniert, beweisen die Beobachtungen von D. K. Zabolotny (13), welcher während der letzten Odessaer Epidemie bei Pestkranken die Agglutinationsreaktion mit mehreren verschiedenen Pestkulturen erzielen konnte¹⁾.

1) Nach Untersuchungen der deutschen Kommission wirkten stark agglutinierende Pestheilsere ebenfalls auf verschiedene Pestkulturen in gleicher Weise.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Gehirnbrabsesse nach dysenterischen Leberabscessen.

[Aus dem ägyptischen Regierungshospital in Alexandria.]

Von Dr. Kartulis.

Mit 1 Tafel.

Gehirnbrabsesse kommen bekanntlich am häufigsten bei Ohrenerkrankungen vor. Abgesehen von denjenigen traumatischen Ursprungs, kommen in Betracht die metastatischen Gehirnbrabsesse, und zu dieser Kategorie gehören wohl die nach Amöbendysenterie bzw. postdysenterische Leberabsesse. In einer Reihe noch lesenswerter Artikel über die Aetiologie der Gehirnbrabsesse von Lebert findet man unter den zahlreichen mitgeteilten Fällen keinen, der nach Dysenterie oder hepatischem Absceß erfolgt ist. Auch in der von demselben Autor sehr ausführlich beigegebenen Literatur seit dem Jahre 1533 bis 1856 wird dieser Entstehungsart von Gehirnbrabsessen keine Erwähnung getan. In dem größten Sammelwerk für medizinische Literatur, dem amerikanischen Index Catalogue 1888—1897, wird nur 1 Fall von Gehirnbrabsceß (Morehead) erwähnt, welcher nach Leberabsceß erfolgt ist. In den grundlegenden Arbeiten über Gehirnbrabsesse von Toynbee (1855), Hugenin (1876), Bergmann und Oppenheim wird diese Kategorie von Gehirnbrabsessen ohne besondere statistische Angaben über die Häufigkeit derselben besprochen. Drei Fälle von Gehirnbrabsceß nach Leberabsceß wurden in der Klinik von Zancarol von Valassopoulos aus Alexandrien in der griechischen Zeitschrift Galenus von 1879 veröffentlicht. In der Literatur der letzten Jahre ferner finden wir einen Fall von posthepatitischem Gehirnbrabsceß im Arch. f. Psychiatrie. Bd. XXXIII. Heft 1, von A. Westphal mitgeteilt. Auffallend ist es aber, daß nicht mehr Beobachtungen über postdysenterische und posthepatitische Gehirnbrabsesse in der englisch-indischen Literatur vorhanden sind, zumal nach meiner eigenen Erfahrung die Gehirnbrabsesse nach Leberabsceß kein seltenes Vorkommnis sind. Denn unter 184 Leberabscessen, die in unserem Hospital zur Behandlung kamen, sind 7 Gehirnbrabsesse konstatiert worden, und unter beinahe 200 anderen Leberabscessen, die außerhalb des Hospitals beobachtet wurden, noch 4. Im ganzen also unter 384 Leberabscessen kamen 11 Gehirnbrabsesse vor = mehr als 3 Proz. Von diesen 11 Fällen waren 10 sicher nach dysenterischen Leberabscessen entstanden und nur 1 Fall kam bei einem Leberabsceß alkoholischen Ursprungs vor, wo zwar keine Dysenterie, jedoch eine chronische Magen- bzw. Darmaffektion vorausgegangen ist.

Dieser Umstand, nämlich das häufige Vorkommen von Gehirnbrabscessen nach Leberabsceß, namentlich dysenterischen Ursprungs, fiel mir seit längerer Zeit auf und ich suchte einen Zusammenhang dieser Entstehungsweise zu finden. Ich fahndete namentlich nach Dysenterieamöben. Indessen gelang es mir nicht, in einer Reihe von diesen Fällen (von den 11 im Hospital beobachteten) Amöben zu finden, vielleicht weil diese Untersuchungen in einer Zeit erfolgten, wo das Auffinden dieser Parasiten, sowohl im Eiter als auch in den Schnitten, viel schwieriger als gegenwärtig war, oder doch weil dieselben wegen des chronischen Bestehens des Leidens nicht mehr sichtbar waren. Es ge-

lang mir jedoch in der letzten Zeit, in zwei Gehirnabscessen, die nach postdysenterischen Leberabscessen entstanden waren, die Dysenterieamöben sowohl im Absceßleiter wie auch in den Schnitten zu finden und damit auch den ätiologischen Zusammenhang dieser Abscesse zu erklären.

Ueber die klinischen Symptome und pathologische Anatomie der Gehirnabscesse findet man in den Werken von Hugenin, von Bergmann, Oppenheim und Westphal eine erschöpfende und vollständige Beschreibung, so daß ich in dieser Mitteilung aus den Krankheitsgeschichten und den Sektionsprotokollen nur das wesentlichste erwähnen werde.

Im ersten Falle (No. 67) handelte es sich um einen 45-jährigen Patienten, der seit längerer Zeit an Dysenterie litt und danach — drei Monate vor seiner Aufnahme ins Hospital — die ersten Symptome von Hepatitis gespürt hatte. Bei der Aufnahme wird sofort ein Leberabsceß des rechten Leberlappens diagnostiziert und der Absceß eröffnet. Größe des Abscesses von einem Fötuskopf. Die Untersuchung des Leberabsceßleiters ergibt mikroskopisch bewegliche Dysenterieamöben, kulturell *B. pyocyaneus*. Die Vernarbung des Abscesses schritt schnell vorwärts, so daß am 18. Tage nach der Operation nur eine kleine Höhle existierte, die nur ganz geringe Mengen von Eiter sezernierte. Am 19. Tage stieg die vorher normale Temperatur auf 38,0 und Patient verbrachte die Nacht mit Delirien, ohne zu schlafen. Patient macht den Eindruck eines Betrunkenen, er beantwortete die Fragen mit undeutlichen Phrasen, die Sprache ist dysarthrisch.

Am 20. Tage: Nacht schlecht, unruhig; heute besteht Lähmung beider Extremitäten rechts. Papillen stark dilatiert, jedoch auf Licht reagierend. Psychischer Zustand wie gestern.

21. Tag: Morgens Temperatur 38,6. Patient liegt apathisch im Bett und stirbt während der Nacht. Die Sektion ergibt Spuren von einer überstandenen Dysenterie (Verdickung des Dickdarmes und Narben im S. romanum. Die Leber ist stark vergrößert. In der Mitte des rechten Lappens eine hühnereigroße Höhle, umgeben von einer zwei Finger breiten, derben Narbe.

Bei Eröffnung des Schädels fällt sofort die Vorwölbung der linken Gehirnhemisphäre auf. Durch Einschnitt in den prominenten Punkt entleert sich grünlicher, dickflüssiger Eiter. Der Absceß liegt vorwiegend im Marklager des L. parietalis sup. Absceßhöhle über gänseigroß. Paracuneus grenzt seine buchtigen Wandungen nach der Rinde scharf ab. Nach innen sind die Grenzen des Abscesses nicht scharf, da zwischen zwei Einbuchtungen eine inselförmige, erweichte, teils mit Blut überfüllte Gehirnmasse sich befindet. Die Untersuchung des Gehirnabsceßleiters ergibt: Eiterkörperchen meistens zerstört, Reste von Ganglienzellen, veränderte rote Blutkörperchen und große, hyalin aussehende Zellen, jedoch ohne Bewegung, die sich aber dem geübten Auge als tote Dysenterieamöben erweisen.

Im 2. Falle (No. 83) handelt es sich um einen 40-jährigen Araber, der ebenfalls im Hospital wegen eines Leberabscesses aufgenommen wurde. Aus der Anamnese erfahren wir, daß er vor 9 Monaten an Dysenterie litt und erst vor kurzer Zeit Symptome von einem Leberabsceß gespürt hat. — Die Operation geschieht durch Resektion der 10. Rippe. Absceßhöhle kindskopfgroß. Der Eiter enthält mikroskopisch deutliche unbewegliche Dysenterieamöben. Die Kultur desselben fiel negativ aus.

In den ersten 6 Tagen nach der Operation fällt bei dem Patienten nichts besonderes auf. Die Temperatur, welche vor der Operation 38,0 war, fällt bis zur Norm. Die Eiterabsonderung erfolgt wie gewöhnlich.

Am 6. Tage merkt man, daß Patient undeutlich redet und das bekannte Bild einer motorischen Aphasie bietet.

Am 7. Tage: Patient liegt ganz apathisch da, er beantwortet die Fragen gar nicht. Die Papillen sind stark erweitert und auf Licht schwach reagierend, es bestehen jedoch keine Lähmungen. Während der Nacht Tod.

Die Sektion ergab noch deutliche Spuren von Dysenterie. Im rechten Leberlappen besteht eine Höhle von über Faustgröße mit zerfetzten Wandungen.

Bei Eröffnung des Schädels findet sich in der dritten Frontalwindung der linken Gehirnhemisphäre eine Absceßhöhle von über Gänseeigröße. Der Absceß liegt auch hier in der Marksubstanz, jedoch beteiligen sich nach außen die Rinde und noch ein Teil der Insel.

Die mikroskopische Untersuchung des Eiters war wie im ersten Falle. Die Amöben waren deutlich zu erkennen, aber auch hier unbeweglich.

Am schönsten war der Nachweis der Amöben in den Schnitten der Absceßwandungen bei beiden Fällen. Während die Parasiten mit Hämatoxylin, Hämatoxylin-Eosin, Karmin, Weigertscher Färbung, Nigrosin u. s. w. nur durch ihre Größe und Form von den anderen Gehirnelementen nicht schwer zu unterscheiden waren, gab die Methylblaufärbung, und zwar alkalische Lösungen dieses Farbstoffes, die schönsten Bilder, indem die Amöben metachromatisch, namentlich durch einen mehr grünlichen Ton, von dem übrigen Gewebe sich auszeichneten.

Im übrigen erinnert der Amöben-Gehirnabsceß an das pathologische Bild des Leberabscesses. Es findet auch hier zuerst ein hämorrhagischer Prozeß statt, indem das Blut durch Zerreißung der Kapillaren das Hirngewebe auseinanderdrängt. Man sieht in diesen Stellen die Blutzellen von Amöben begleitet zwischen der erweichten Gehirnssubstanz, während in den Grenzen der Erweichung noch die blutüberfüllten Kapillaren zu sehen sind. In einem Präparat waren auch Amöben nebst roten Blutkörperchen und Leukocyten zu sehen, andere Kapillaren wieder waren mit Fibrinmassen gefüllt.

Eine Abkapselung der Amöbengehirnabscesse war in beiden Fällen zu sehen. Die großen epitheloiden Zellen, die Westphal in seinen Fällen beschrieben hat, waren auch in unseren Fällen zu sehen und zwar lagen dieselben in der unmittelbaren Nähe der Erweichung. Diese Zellen jedoch konnten sofort durch ihre größere Gestalt, ihren größeren Kern und Mangel an Vakuolen von den Dysenterieamöben unterschieden werden.

Literatur.

Lebert, Virch. Arch. Bd. X. p. 78, 352, 426.

Hugenin, Ziemssens Handbuch. Bd. XI. I.

v. Bergmann, Billroth, Pithas Handbuch.

—, Die chirurgische Behandlung der Hirnabscesse. 3. Aufl. 1899.

Oppenheim, Gehirnabsceß. (Nothnagels Handbuch. Wien 1897.)

Westphal, A., Arch. f. Psychiatrie u. Nervenkrankh. Bd. XXXIII. 1900. Heft 1. p. 206.

Erklärung der Abbildungen.

Fig 1. Schnitt durch die Absceßkapsel. Reste von Markfasern und Gefäßen. In der Mitte des Präparats Infiltration mit Rundzellen. Die Amöben sind hier als kleine Prickeln angedeutet (Hämatoxylin-Eosinfärbung).

Fig. 2. Vom Rande des Abscesses. Reste von Gehirngewebe, Gliazellen, Eiterkörperchen und Dysenterieamöben.

(Die Lücke ist durch Druck mit dem Tubus auf das Präparat entstanden.)

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Kenntnis der Naganainfektion bei Meer-schweinchen.

[Aus dem staatlichen Laboratorium für Schiffs- und Tropenhygiene im Seelazarette S. Bartolomeo bei Triest.]

Von Seesaniätsinspektor Dr. **Markl.**

Die immer sich mehrenden Publikationen über den Befund von Trypanosomen bei Menschen veranlaßten mich, die Infektion mit diesen Parasiten in das Gebiet der Studien an der hiesigen Station einzubeziehen, um so mehr, als dieselbe bei dem regen Verkehre unserer Handelsmarine mit den Tropen nicht selten in die Lage kommt, in klinisch schwierigen und zweifelhaften Fällen die Differenzialdiagnose zu stellen.

Bekanntlich war Dutton¹⁾ der erste, der im Blute eines Bootsmannes Trypanosomen fand. Die Krankheitssymptome, welche in diesem Falle beobachtet wurden, waren: große Schwäche, Beschleunigung des Pulses und der Atmung, Oedem der unteren Augenlider und Knöchel, unregelmäßiges, alle 3–5 Tage zurückkehrendes und nie länger als 2 Tage anhaltendes Fieber, Milztumor. Trypanosomen fanden sich im Blute nur während des Fieberanfalles vor. Derselbe Verfasser sah in Gambia Kongostaate Trypanosomen neben Malariaparasiten im Blute eines Negerkindes, welches jedoch keine Krankheitssymptome bot, und in der neuesten Zeit beschreibt er Trypanosomenbefunde bei vielen Eingeborenen im Kongogebiete²⁾.

Nach Sander³⁾ stellte die Gambiaexpedition der Liverpool of Tropical Medicine fest, daß Trypanose unter den Eingeborenen von Britisch-Gambia in ausgedehntem Maße herrsche.

Nach demselben Autor hat Baker Trypanosomen bei Menschen in Uganda gefunden, und es scheint, daß auch Livingstone einer Trypanosomeninfektion erlegen ist.

Ferner beschrieben Forde, Broden, Manson, Daniel und Todd⁴⁾ Fälle von Trypanosomiasis bei Europäern, welchen Günther und Weber⁵⁾ einen neuen, aus Deutsch-Ostafrika stammenden Fall hinzufügen.

Alle diese Fälle sind unter dem Namen „Trypanosomiasis“, einer über Jahre sich schleppenden, in der Regel in Genesung ausgehenden Affektion bekannt, welche klinisch durch unregelmäßige Fieber-

1) Ref. im Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. VII. No. 4.

2) Ref. im Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. VIII. No. 6.

3) Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. VII. No. 10.

4) Ref. im Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. VII. No. 11.

5) Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 24.

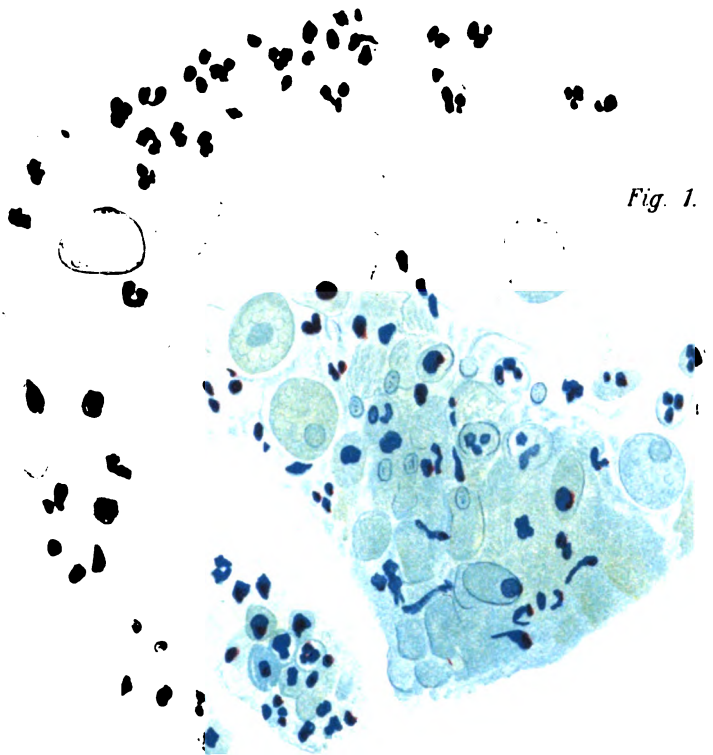


Fig. 1.

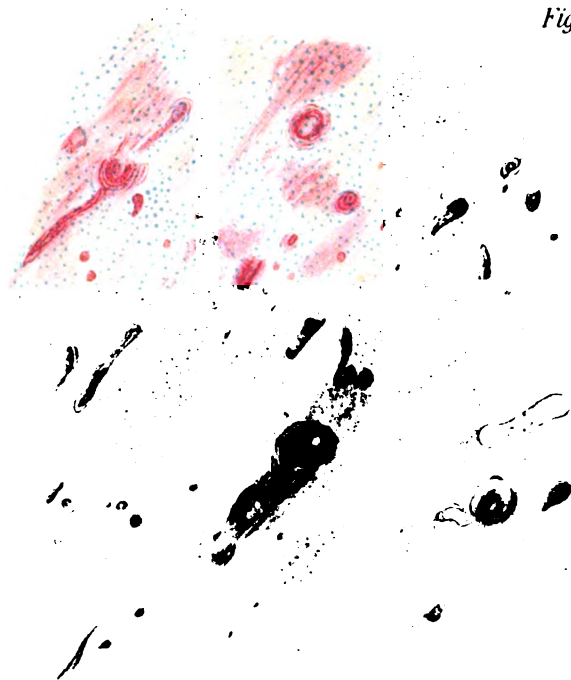


Fig. 2.

anfälle, Mattigkeit, Anschwellungen an den Unterschenkeln, vorübergehende Lähmungen, Pulsbeschleunigung, örtliche Oedeme flüchtiger Art, eigenartige Hautaffektionen, Milz- und Lebervergrößerung charakterisiert ist. Trypanosomen sind im peripheren Blute nur während der Fieberanfälle und dies in der Regel nur spärlich nachweisbar.

Außer der Trypanosomiasis ist noch eine andere, auch durch Trypanosomen bedingte bösartige Affektion bei Menschen bekannt, nämlich die Schlafkrankheit der Neger, bei welcher Castellani¹⁾ Trypanosomen in der Cerebrospinalflüssigkeit entdeckte.

Ob die Blutparasiten der Trypanosomiasis mit jenen der Schlafkrankheit identisch sind, ist zur Zeit nicht sicher entschieden²⁾; noch weniger aber die Frage, ob die Menschentrypanosomen eine Art *sui generis* darstellen, oder aber einer der bei Tieren beobachteten Species angehören.

Unter den Trypanosomenarten ist das *Trypanosoma Brucei*, der Erreger der Nagana, am besten studiert. Ich habe daher meine Versuche mit dieser Art angefangen, und zwar an Meerschweinchen, eines teils deswegen, weil diese Tiere nach Kanthack, Durham und Blandford³⁾ sowie nach Martini⁴⁾ der Naganainfektion gegenüber für wenig empfänglich galten und daher eine gewisse Analogie mit der menschlichen Trypanosomiasis versprachen, anderenteils aber, weil die Naganainfektion bei Meerschweinchen in der Literatur bisher nicht eingehend beschrieben war.

Das Ausgangsmaterial zu meinen Versuchen bildeten zwei von Herrn Dr. Pro wazek in Rovigno mir in lebenswürdiger Weise zur Verfügung gestellte Meerschweinchen, welche mit frischem Blute von einem am 14. Jan. 1904 geimpften und am 22. Jan. getöteten Tiere infiziert waren. Dieses letztere war von einem von Mesnil stammenden, am 14. Jan. eingegangenen Meerschweinchen geimpft.

Das eine von diesen Tieren verendete am 2. Febr. (11 Tage nach der Infektion), während das andere erst am 10. April (80 Tage nach der Infektion) starb. Der Sektionsbefund war in beiden Fällen negativ, insbesondere war keine Leber- oder Milzvergrößerung zu konstatieren und im Blute weder nativ, noch nach Thioninfärbung Trypanosomen nachweisbar.

Trotz dem negativen Befunde, welcher übrigens mit dem Ergebnis der während des Lebens der Tiere wiederholt vorgenommenen Blutuntersuchung übereinstimmte, wurde das frisch entnommene Blut des am 2. Febr. verendeten Tieres einem erwachsenen Meerschweinchen (No. 3, Weibchen) intraperitoneal injiziert. Das andere Tier konnte leider zur weiteren Uebertragung nicht verwendet werden, weil es bei der Obduktion schon Fäulnissymptome zeigte.

Das Meerschweinchen No. 3 war mit einem Männchen zusammen und hat während der ganzen Beobachtungszeit keine Krankheitssymptome

1) Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. Bd. VII. No. 8.

2) Dutton, Todd, Bruce, Thomas u. Linton, Laveran u. A. halten die Trypanosomiasis für das erste Stadium der Schlafkrankheit. Nabarro bezweifelt das. Ebenso hält Manson den Zusammenhang zwischen beiden Krankheiten für noch nicht bewiesen.

3) Ref. bei Laveran u. Mesnil, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XVI. No. 1.

4) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLII. H. 2.

geäußert. Am 2. März hat dasselbe 2 Junge (No. 4 u. 5) geworfen, die sich normal entwickelten und vollständig gesund blieben.

Am 10. April, also 68 Tage nach der Injektion, wurde das Meerschweinchen No. 3 tot aufgefunden, nachdem es tags zuvor noch lustig war und unverminderte Freßlust zeigte.

Die sofort ausgeführte Obduktion ergab: Guter Ernährungszustand; die Leber etwas, die Milz vierfach vergrößert, Gravidität (ein Embryo).

In Blut- und Leberausstrichpräparaten (Thionin) waren zahlreiche Trypanosomen nachweisbar. Hingegen war das Fötal- und Placentarblut vollständig parasitenfrei.

In den mit Thionin gefärbten Ausstrichpräparaten aus der Milz waren keine Flagellatenformen zu finden, es ließen sich jedoch nach der Giemsa-Färbung, wie mir Herr Dr. Prowazek liebenswürdig mitteilte, viele degenerierte Parasiten und freie Naganakerne nachweisen.

Das Ergebnis dieses Versuches scheint in mancher Hinsicht beachtenswert. In erster Linie ist hierdurch der Nachweis erbracht, daß das am 2. Febr. eingegangene Meerschweinchen, trotz dem negativen Befunde, tatsächlich mit Nagana infiziert war.

Offenbar waren in diesem Falle die Blutparasiten so spärlich, daß sie bei der mikroskopischen Untersuchung übersehen wurden. Damit dürfte auch der protrahierte Krankheitsverlauf (68 Tage bei dem Meerschweinchen No. 3) zusammenhängen.

In zweiter Linie ist hierdurch die bereits von Laveran und Mesnil¹⁾ bei Ratten beobachtete Tatsache, daß Föten durch den Placentarkreislauf nicht infiziert werden, auch für Meerschweinchen bestätigt. Der Schutz ist offenbar ein rein mechanischer; die Placentargefäße lassen einfach die Blutparasiten nicht durch. Eine Immunität der Föten scheint dabei nicht zu stande zu kommen, wenigstens ist das Meerschweinchen No. 4, welches 6 Wochen nach der Geburt samt einem Kontrolltier (Meerschw. No. 7) infiziert war, gleichzeitig mit diesem der Nagana erlegen.

Ich möchte nun im Nachfolgenden einige Auszüge aus meinen Versuchsprotokollen folgen lassen, um dann an deren Hand die Eigentümlichkeiten der Nagana der Meerschweinchen zu erörtern.

Meerschweinchen No. 6.

Großes Männchen, infiziert am 10. April mit Blut von Meerschweinchen No. 3, intraperitoneal.

2 Tage nach der Infektion im peripheren Blute noch keine, in der Peritoneallymphe sehr spärlich Trypanosomen nachweisbar.

6 Tage nach der Infektion erscheinen Trypanosomen spärlich im peripheren Blute, während sie zu dieser Zeit in der Peritoneallymphe schon zahlreich vorhanden sind.

11 Tage nach der Infektion Abnahme der Parasiten im Blute.

19 Tage nach der Infektion Zunahme der Parasiten im Blute; zahlreich in der Peritoneallymphe.

25 Tage nach der Infektion im Blute zahlreich, in der Peritoneallymphe noch zahlreicher Trypanosomen.

Exitus am 11. Mai (31 Tage nach der Infektion). Obduktion: Guter Ernährungszustand; Leber vergrößert, Milz kolossal. Pulpa weich. In der Peritoneallymphe nativ sehr spärlich, im Herzblute nicht zahlreich bewegliche Flagellatenformen neben unbeweglichen, runden oder birnförmigen, geißeltragenden Zellen (Laveran-Mesnilsche „mis en boules“-Formen). In den Ausstrichpräparaten aus der Leber sind nach Giemsa-Färbung zahlreiche Trypanosomen und ganze Komplexe von runden Formen (Agglomération de Trypanosomes mis en boules nach Laveran-Mesnil) nachweisbar.

1) Ann. de l'Inst. Pasteur. Bd. XVI. No. 1.

Meerschweinchen No. 4.

6 Wochen altes, während der Infektion der Mutter geborenes Tier, wurde am 17. April mit einem Tropfen Peritoneallymphe von Meerschw. No. 6, aufgeschwemmt in 0,4 ccm physiologischer Kochsalzlösung, intraperitoneal infiziert.

7 Tage nach der Infektion in der Peritoneallymphe Trypanosomen, im peripheren Blute noch keine.

18 Tage nach der Infektion im peripheren Blute spärlich Trypanosomen.

25 Tage nach der Infektion ziemlich zahlreiche Parasiten im Blute.

Exitus am 16. Mai (29 Tage nach der Infektion) plötzlich, anscheinend inmitten voller Gesundheit.

Die Obduktion ergab: Milztumor, brüchige Leber und Ecchymosen an der Lungenpleura.

Die Peritoneallymphe erwies sich mikroskopisch frei von Trypanosomen. Die Blutpräparate zeigten spärliche Trypanosomen (gewöhnliche Form), hingegen massenhaft große, geißeltragende Zellen mit großem, deutlichem, meist mitotisch zerklüftetem Kern, teils einzeln, teils in größeren verflochtenen Komplexen.

In den Ausstrichpräparaten aus der Leber waren große, geißelfreie Formen mit zerklüftetem Kern wahrnehmbar, in der Milz keine Trypanosomen sichtbar.

Meerschweinchen No. 7.

Kontrolltier zu Meerschw. No. 4, wurde am 17. April mit gleicher Dosis desselben Materials, wie dieses geimpft.

Exitus plötzlich am 16. Mai, 29 Tage nach der Infektion, genau wie bei Meerschweinchen No. 4. Der Sektions- und Blutbefund war derselbe wie beim Meerschweinchen No. 4.

Meerschweinchen No. 8.

Großes Weibchen, hat in 7-tägigen Intervallen dreimal hintereinander je 0,5 ccm erhitzter, an Trypanosomen reicher Peritoneallymphe von naganakranken Meerschweinchen intraperitoneal erhalten und wurde eine Woche nach der letzten Injektion (am 23. Mai) mit 1 ccm Blut von Meerschw. No. 12 intraperitoneal infiziert.

9 Tage nach der Infektion waren im peripheren Blute spärlich Trypanosomen, zahlreiche frei Kerne in ganzen Komplexen nachweisbar.

Exitus am 21. Juni nachts (28 Tage nach der Infektion). Die Obduktion in der Frühe ergab: In der Bauchhöhle viel flüssiges Blut. Nach dessen Entleerung sieht man die kolossal vergrößerte Milz, in der Mitte zerrissen; die Rupturöffnung führt in eine ziemlich große Kaverne von unebenen Wänden. Organe anämisch. Im Blute mäßig viele Trypanosomen und runde Formen.

Meerschweinchen No. 9.

Großes Weibchen (Kontrolltier zum vorigen) wurde am 23. Mai mit gleicher Dosis desselben Materials wie dieses infiziert.

9 Tage nach der Infektion waren im peripheren Blute Trypanosomen kaum auffindbar, dafür aber viele freie, schwach gefärbte Kerne in ganzen Komplexen.

Exitus am 14. Juni (21 Tage nach der Infektion).

Bei der erst am 20. Juni vorgenommenen Obduktion des in Spiritus aufbewahrten Kadavers konnte ich nunmehr einen großen Milztumor und Bluterguß in die Bauchhöhle feststellen.

Meerschweinchen No. 10.

Großes Weibchen, wurde am 11. Mai mit 0,5 ccm Blut von Meerschw. No. 6 intraperitoneal infiziert.

Am 12. Mai Temperatur 39,3 C.

" 13. " " 38,9 C.

" 14. " " 39,0 C.

" 15. " " 38,8 C.

" 18. " " 38,7 C, im Blute massenhaft Trypanosomen.

" 19. " " 38,7 C, " " " "

" 20. " " 39,2 C, " " " "

" 21. " " 38,8 C, Asthma, Abnahme von Trypanosomen.

" 22. " " 38,3 C, keine Freßlust, Asthma dauert fort. Im Blute nicht besonders zahlreich Trypanosomen; Teilungsformen.

Am 23. Mai Temperatur 38,4 C, mäßig viele Trypanosomen, viele Teilungsfiguren und freie Kerne.

Am 24. Mai Temperatur 37,9 C, äußerst spärliche, kaum auffindbare Flagellatenformen, lose, schwach gefärbte Kerne ohne deutliche Konturen in kleinen Komplexen, deren Entstehung aus den ersteren durch Zerfall des Protoplasmas verfolgt werden kann.

Am 25. Mai Temperatur 37,6 C, ziemlich spärlich Trypanosomen und lose Kerne; Leukocytose.

Am 26. Mai Temperatur 38,0 C. Tier anscheinend erholt; Asthma geringer, die Freßlust kehrt zurück. Blutbefund wie tags zuvor.

Am 27. Mai Temperatur ?, viele Komplexe loser Kerne, mäßig viele Trypanosomen. Zunahme.

Am 28. Mai Temperatur 39,0 C. Trypanosomen und lose Kerne ziemlich zahlreich. Am 30. Mai Temperatur 35,2 C. Kollaps, Dyspnoë; Tier moribund. Kolossale Leukocytose, mäßig zahlreich Trypanosomen, spärlich lose Kerne.

Exitus am 31. Mai (20 Tage nach der Infektion). Sektionsbefund: Leber sehr vergrößert, Gallenblase ad maximum erweitert und gefüllt, Milz klein und blaß. Im Thorax sanguinolente Flüssigkeit, Lungen ganz komprimiert, luftleer.

Im Blute spärlich Trypanosomen nachweisbar.

Meerschweinchen No. 11.

Junges Tier, 115 g schwer, 4 Wochen alt, wurde infiziert am 11. Mai mit der gleichen Dosis desselben Materiales wie das Meerschw. No. 10.

Am 18. Mai (nach 7 Tagen) spärlich Trypanosomen im Blute.

Am 20. Mai (nach 9 Tagen) ziemlich viele Trypanosomen im Blute.

Am 21. Mai (nach 10 Tagen) Abnahme.

Am 22. Mai (nach 11 Tagen) Trypanosomen kaum auffindbar, dafür lose Kerne.

Am 24. Mai (nach 13 Tagen) Zunahme von Trypanosomen, Teilungsformen und lose Kerne.

Vom 25. bis 28. Mai langsam Zunahme von Trypanosomen und Abnahme von Kernen.

Am 30. Mai (nach 19 Tagen) sehr viele Trypanosomen im Blute.

Am 2. Juni (nach 22 Tagen) unzählbare Trypanosomen.

Am 3. Juni dasselbe.

Exitus am 5. Juni (25 Tage nach der Infektion).

Die 10 Stunden nach dem Tode vorgenommene Obduktion ergab: Großer Milztumor, Leber brüchig, Hämorrhagieen an der Pleura und im Lungengewebe, an der Basis der rechten Lunge ein keilförmiger, luftleerer Infarkt. Lungenödem. Im Blute viele Parasiten, vorwiegend runde Formen.

Meerschweinchen No. 14.

Großes Männchen, wurde am 16. Mai mit Blut vom Meerschw. No. 7 intraperitoneal infiziert.

7 Tage nach der Infektion waren im peripheren Blute mäßig zahlreich Trypanosomen nachweisbar.

Am 30. Mai (14 Tage nach der Infektion) ist das Tier moribund geworden. Im Blute fanden sich massenhaft Trypanosomen.

Post mortem: In der Bauchhöhle ca. 10 ccm flüssiges Blut, unzählige, lebhaft bewegliche Trypanosomen enthaltend. Die kolossal vergrößerte Milz war in der Mitte ballonartig erweitert und bot am Durchschnitte eine subkapsuläre, mit frisch geronnenem Blute gefüllte Blutcyste dar. In der Milzgegend zahlreiche Blutkoagula. Organe äußerst anämisch, die Lungenpleura im Oberlappen mit Ecchymosen bedeckt. In dem nach Giemsa gefärbten Blutpräparaten waren massenhaft Trypanosomen mit schwach gefärbtem Plasma und lose Kerne nachweisbar.

Meerschweinchen No. 16.

Infiziert am 17. Mai mit Blut vom Meerschw. No. 4.

4 Tage nach der Infektion erscheinen die ersten Trypanosomen im Blute.

Vom 4. bis zum 11. Tage nehmen die Trypanosomen langsam zu, vom 7. Tage an erscheinen auch lose Kerne im Blute.

Am 13. Tage sind Trypanosomen sehr zahlreich, am 16. und 17. Tage massenhaft vorhanden, während die Kerne immer mehr abnehmen.

Am 18. Tage wird das Tier plötzlich moribund, erholt sich jedoch bald wieder. Blutbefund wie tags zuvor.

Exitus am 5. Juni (19 Tage nach der Infektion). Sektionsbefund (10 Stunden post mortem): Großer Milztumor, Ecchymosen an der Lungenpleura, im Blute massenhaft Komplexe von runden Formen.

Meerschweinchen No. 19.

Großes Tier, infiziert am 21. Juni mit 1 ccm Blut vom Meerschw. No. 8, intraperitoneal.

Am 9. Tage nach der Infektion sehr spärlich Trypanosomen im Blute.

21 Tage nach der Infektion erkrankt das Tier plötzlich, liegt auf der Seite. Die Extremitäten sind paretisch, die Sensibilität nicht gestört. Im Blute massenhaft Trypanosomen vorhanden. Nach einer Stunde erholt sich das Tier wieder und frisst.

Exitus am 13. Juli (22 Tage nach der Infektion). Sektionsbefund: Lungenödem, luftleerer Herd im Oberlappen der rechten Lunge, Leber vergrößert, Gallenblase prall gefüllt, großer Milztumor.

Meerschweinchen No. 20.

Junges Tier, wurde infiziert am 13. Juli mit Blut vom Meerschw. No. 19.

Exitus am 13. September, 62 Tage nach der Infektion. 4 Stunden vor dem Tode war das Tier noch munter und fraß begierig. Tags zuvor waren viele Trypanosomen im Blute nachweisbar. Die Sektion ergab nur Milztumor und Ecchymosen an der Lungenpleura. Im Blute waren nicht zahlreich degenerierte Trypanosomen, aber massenhaft freie Kerne in ganzen Komplexen nachweisbar.

Wenn wir nun die Versuchsergebnisse überblicken, sehen wir, daß die Inkubationszeit bei der Nagana der Meerschweinchen 3—8 Tage dauert und der Tod der Tiere nach 11—68 Tagen (im Mittel 29 Tage) eintritt.

Kanthack, Durham und Blandford geben die Inkubationszeit mit 5—7 Tagen, die Krankheitsdauer mit 20—183 Tagen (im Mittel 50 Tage) an.

Nach den Versuchen Laverans und Mesnils, die meines Wissens die Naganainfektion nach den Engländern am genauesten studierten ¹⁾, unterlag die größte Zahl der Meerschweinchen nach 15—30 Tagen der Infektion; nur einige überlebten 46—61 Tage.

Diese Angaben stehen auch mit meinen Ergebnissen ziemlich im Einklange.

Auch was das erste Erscheinen der Parasiten im Blute und deren rasche Vermehrung im Peritoneum (bei peritonealer Infektion) anbelangt, stimmen meine Beobachtungen mit jenen von Laveran und Mesnil überein.

Bezüglich der Zahl der Parasiten im Blute führen Laveran und Mesnil an, daß dieselben keinen regelmäßig aufsteigenden Gang verfolgen. Die Trypanosomen kommen und verschwinden wieder und sollen im allgemeinen weniger zahlreich sein als bei der Kanincheninfektion.

Ich konnte beobachten, daß der Gang der Parasiten im Blute ziemlich regelmäßig ist und gewisse Analogie mit jenem bei der menschlichen Trypanosomiasis bietet.

Vom Tage ihres ersten Erscheinens nehmen die Blutparasiten nämlich langsam zu, bis sie anfangs der 2. Woche das Maximum erreichen. Am 10. oder 11. Tage nach der Infektion findet eine Abnahme der Parasiten statt, ja, sie können fast ganz verschwinden, indem ihr Protoplasma zerfällt und nur lose Kerne zurückbleiben. In diesem Stadium bemerkt man eine lebhaft Leukocytose.

In den nachfolgenden Tagen findet wieder eine Vermehrung der Parasiten unter stetiger Abnahme der freien Kerne statt, so daß es am Ende der 3. oder anfangs der 4. Woche wieder zu einer Anhäufung der Trypanosomen im peripheren Blute kommt.

Dieser Prozeß kann sich noch mehrmals wiederholen, bis das Tier endlich der Infektion unterliegt, und zwar in dem Stadium, wenn die meisten Parasiten im Blute zirkulieren oder kurze Zeit nachher, wenn dieselben schon im Zerfall begriffen sind. Die Zahl der Blutparasiten kann mitunter ganz enorm sein.

¹⁾ Literaturverzeichnis bei Rabinowitsch-Kempner, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIV. No. 8.

Als Krankheitserscheinungen wollen Laveran und Mesnil in einigen Fällen, welche über 20 Tage sich hinzogen, geringe Störungen der Augen sowie Oedeme der Vulva, Vagina und der Analgegend beobachtet haben. Ich habe dergleichen nie gesehen. Die Tiere boten in der Regel gar keine Krankheitssymptome dar.

Nur in einem Falle (Meerschw. No. 10) konnte ich einen ausgesprochenen, mehrere Tage anhaltenden Krankheitszustand beobachten, welcher durch hochgradiges Asthma charakterisiert und durch Bluterguß in die Brusthöhle und Kompression der Lunge bedingt war. Bei zwei Tieren kam es kurz vor dem Tode zu einer Art Synkope und zu paretischen Erscheinungen, doch erholten sich die Tiere wieder.

Laveran und Mesnil haben während der ganzen Dauer der Krankheit bei Meerschweinchen ein kontinuierliches Fieber beobachtet, welches im allgemeinen über 40° betrug. Bei meinen Tieren überstieg die Körpertemperatur nur selten 39° , erreichte aber nie 40° .

Der Tod meiner Tiere erfolgte immer plötzlich, anscheinend inmitten voller Gesundheit. Die eigentümliche Todesart war auch Laien auffallend; mein Laboratoriumsdiener berichtete mir darüber mit lakonischen Worten: „e morto in piedi“.

In der Tat, Tiere, die soeben noch herumgesprungen und gefressen haben, stürzen auf einmal zusammen wie vom Schläge getroffen; einige Zuckungen oder Konvulsionen schlossen den kurzen Todeskampf ab.

Die Todesart erinnert entschieden an jene, wie wir sie bei Herzkrankheiten, Blutungen in das Zentralnervensystem und Embolien kennen.

Der pathologisch-anatomische Befund bei den an Nagana gestorbenen Tieren genügt nach den bisherigen Arbeiten nicht, die Todesursache aufzuklären.

Fast alle Autoren führen als konstanten Befund die Hypertrophie der Milz an. Sie soll nach Laveran-Mesnil bei Ratten und Mäusen regelmäßig vorkommen, nicht aber bei Meerschweinchen und Kaninchen.

In meinen Versuchen war der Milztumor in 84 Proz. vorhanden. In einem Falle war anstatt der Milz die Leber bedeutend vergrößert. In 2 Fällen war die unmittelbare Todesursache die innere Verblutung infolge Milzruptur, in einem Falle die Atelaktasis der Lungen infolge Hämatothorax.

In den übrigen Fällen reichte jedoch der pathologisch-anatomische Befund nicht aus, um die Todesursache aufzuklären.

Schon Laveran und Mesnil sprachen die Meinung aus, daß eine mechanische Schädigung durch die Zahl der Blutparasiten im Spiele sein dürfte. Sie halten es nicht für unmöglich, daß speziell die bei Ratten beobachteten Konvulsionen durch Embolien der Bulbargefäße bedingt sein könnten.

Eine andere Ansicht, die schon die Engländer vertraten, ging dahin, daß die Naganaparasiten ein Toxin erzeugen. Es ist jedoch weder den Engländern noch den Franzosen gelungen, ein solches nachzuweisen.

Auf den ersten Blick bietet die Nagana eine gewisse Ähnlichkeit mit dem Milzbrand.

Beide Affektionen zeichnen sich durch eine enorme Vermehrung von verhältnismäßig großen Parasiten im Blute aus, beide können zum plötzlichen Tode ohne auffallende Krankheitserscheinungen führen, ohne daß eine Toxinwirkung nachgewiesen werden könnte.

Aber die Analogie ist doch nur eine scheinbare. Der Milzbrand ist eine akute Infektionskrankheit, bei welcher die Vermehrung der

Parasiten stets zunimmt, während die Nagana eine chronische, durch den Entwicklungsmodus der Parasiten bedingte Affektion darstellt. Ferner sind bei Milzbrand, wenn auch nicht auffallende, so doch nachweisbare Störungen immer vorhanden, welchen eine Toxinwirkung zu Grunde liegen kann, trotzdem daß es bisher nicht gelungen ist, die Milzbrandbacillen in vitro zur Toxinproduktion zu bringen.

Beim Naganatode der Meerschweinchen sprechen aber alle Umstände dafür, daß er durch eine mechanische Ursache, durch Thrombose oder Embolie bedingt ist. Ich war bestrebt, dieser Hypothese durch histologische Untersuchung näher zu treten, jedoch mit negativem Erfolge.

Die histologische Untersuchung der Organschnitte bot außer Hämorrhagien und Lungenödemen im allgemeinen nichts Charakteristisches dar und die Untersuchung auf Fibringerinnsel in den Gefäßen nach der Weigert'schen Methode fiel negativ aus. Hiermit war meine Annahme, daß bei dem Zerfalle der Trypanosomen in freie Kerne ein Ferment frei wird, welches zu Thrombose führt, widerlegt.

Es wäre wohl noch denkbar, daß die Trypanosomen oder ihre Zerfallsprodukte (die runden Formen und freien Kerne), welche mitunter große Agglomerate bilden, Embolien der Kapillaren erzeugen.

Diese Hypothese bleibt jedoch noch zu beweisen, denn vorläufig ist es mir nicht gelungen, die Naganaparasiten in Schnitten zur Darstellung zu bringen.

Nachschrift bei der Korrektur.

Nach einem in No. 15/16 des XXXV. Bandes des Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. erschienenen Referate aus der am 16./29. April abgehaltenen Sitzung der Mikrobiologischen Gesellschaft zu St. Petersburg berichteten Neporojny und Jakimoff, daß bei mit Nagana und Mal de Caderas infizierten Tieren die Lungenkapillaren von Trypanosomen überfüllt und sogar die größeren Gefäße stellenweise durch dieselben thrombosiert seien. Leider ist dem Referate nicht genau zu entnehmen, an welchen Tieren experimentiert und welches Verfahren bei der mikroskopischen Untersuchung angewandt wurde.

Nachdruck verboten.

The trypanosoma of Dourine and its life history.

By Prof. A. Lingard, M. B.,

Imperial Bacteriologist to the Government of India.

I. The trypanosoma of Dourine. The trypanosoma of Dourine differs in size, according to the age of the parasite. It is for the most part smaller than the Surra haematozoon and considerably smaller than the organism of the rat (m. d.). The differences between the trypanosoma of Dourine and that of the rat are most marked. In the latter, the posterior extremity is extremely long and slender and tapers gradually from before backwards, the micro-nucleus being situated about the junction of the anterior $\frac{4}{5}$ th with the posterior $\frac{1}{5}$ th. In Dourine, on the other hand, the posterior extremity is short and sometimes pointed, but more often it is somewhat rounded, and the micro-nucleus is placed within a very short distance of the posterior end of the body. When

undergoing division, the Dourine trypanosoma may attain even larger proportions than are usually noticed in the Surra trypanosoma. A marked feature of the Surra protozoon is the presence of large numbers of highly refractile granules in the fresh state and of chromatin grains in stained specimens which occupy positions anterior and posterior to the macro-nucleus, especially if the haematozoon happens to be present in large numbers during each paroxysm and shortly before death. In the case of Dourine these granules are not present to the same extent and they are smaller in size; further, the undulating membrane is less developed than in the former disease and only one mode of division, namely the longitudinal is observed in mature trypanosomata. The process of division may commence at either end or in the centre of the organism. As a rule one of two courses happens, either the micro-nucleus first becomes elongated and dumbbell shaped and then divides into two parts, or the chromatin body elongates and divides into two. Sometimes a separation is observed first in the flagellum. Finally division may primarily affect only the anterior or the posterior portions of the organism, and these may become free, while the macro-nucleus for the time being remains single. The organism is then only fixed by the middle, owing to the late division of the chromatin body. In stained specimens of trypanosomata in conjugation, the micro-nucleus was observed to have divided into two in each parasite respectively, and in one organism, the anterior of the two micro-nuclei attained a size twice or three times the size of the posterior one, although those present in the second trypanosoma remained small. In 1891, in order, if possible, to determine the effect of conjugation between trypanosomata, I injected into an aural vein of one rabbit suffering from Surra, a small quantity of methylene-blue solution, while a small quantity of eosine in solution was injected in a similar manner into the aural vein of a second rabbit, with Surra. The injections were made during concurrent paroxysms in each animal. Later, blood was drawn from each animal mixed and the fresh blood was submitted to microscopical examination, in order, if possible, to determine the results of conjugation. In the few examples of conjugation which came under observation, no coloured particles were seen to leave the body cavity of one haematozoon and enter that of the other. Further, the micro-nuclei were not observed to fuse or to alter their relative positions, one to the other, in conjugation organisms.

II. Usual seat of inoculation and incubation period. A stallion or mare usually contracts the disease during coitus. The trypanosoma or its developmental forms is present in the semen of the affected male, and is also frequently present and for long periods, but at irregular intervals in the vaginal mucus of the affected mare. The disease is transmitted by the entrance of the trypanosoma, by means of an erosion of the genital mucous-membrane in either sex, but an abrasion may perhaps be unnecessary in some instances. In the stallion the preferential sites for the development of the protozoon appear to be the extremity of the penis and later its sheath. In the mare, the vulva appears to be the usual seat in the majority of cases. Certain changes probably take place at the seat of inoculation of the "contagium", for, it is unusual for the organism to enter the circulation and bring about a general infection, as evidenced by the eruption of cutaneous plaques which will be described subsequently, until a period of from

30 to 34 days have elapsed, from the date of the primary infection. On the other hand, it is not at all uncommon for a very prolonged period of from 10 to 12 months or longer to occur, before any blood infection takes place in stallions, especially if swelling of the sheath be detected early, and the animal be immediately segregated, and given complete rest, good food, and covering be discontinued. The exact date of covering the infected mare which communicated the disease to the stallion, may be known, and no subsequent chance of contracting the disease may have been allowed so that it is possible to accurately fix the date of onset. Although the "materies morbi" of the disease is present in a localized region of the animal, the trypanosoma or its developmental forms lies in a dormant state in the tissues, but ready to spring into activity at short notice, as evidenced by the fact that when the inoculated animal is subjected to lowering or depressing conditions, further and more advanced symptoms of the malady quickly become apparent. When the trypanosoma has obtained an entrance into the general circulation, the eruption of cutaneous plaques may occur at any time after an interval of a few days, and may recur at intervals for long periods, exceeding a year. The exhibition of further symptoms during the course of the disease, be they nervous, articular, or cutaneous, are all due to the presence of the trypanosoma, in the tissues of each affected part of the body, the inflammatory and other changes there having been brought about by its presence.

III. Where does the trypanosoma rest in stallions during the prolonged latent period characterized by slight tumefaction of the penile sheath? Up to the present time I have not been able to accurately determine: 1) Whether the trypanosoma becomes generalized throughout the system in stallions which present for long periods the latent form of Dourine, 2) or, whether the developmental form of the trypanosoma remains dormant in the swollen penile sheath of the affected animal until such time as depressing conditions reduce its vitality.

In one instance the semen of such an inoculated animal did not appear to contain the trypanosoma or its developmental forms and the blood from the general circulation did not reproduce the disease when inoculated into a susceptible animal. In some cases it would appear possible for the trypanosoma or rather its developmental forms to be shut off for a time in the affected part, identical changes taking place in the localized swelling of the penile sheath to those occurring during the persistence of a plaque, which will be described subsequently. In some cases it would appear as if the trypanosoma is more or less cut off for a period in the lymphatic vessels, for occasionally these may be seen to be enlarged and more or less varicosed.

IV. Definition of the term plaque. The Dourine plaque is a form of Urticaria or nettle-rash, the characteristic lesion of which is a raised patch or wheal. The patch or plaque is a circumscribed oedema of the skin due to paralytic dilatation of the arterioles, followed by an exsudation of serum and migration of leucocytes. According to Neisser, the formation of a wheal in the human subject consists in an increased secretion of the lymph in the neighbourhood of the capillaries of the skin, this in turn causes compression of the vessels and explains the blood less centre of the patch. The variations in characters of the Dourine plaque are due to the different depths to which the infiltration

penetrates. In the ordinary form of urticaria, only the upper layer of the integument is affected, while in *U. gigas* or what is called the acute circumscribed oedema of Quincke, the whole thickness of the skin is involved. This form of the disease is characterized by the development of patches of localized oedema of large size. The patches are hard to the touch, their surface more or less round, itching is seldom a symptom, they only last a day or two and they subside as quickly as they form. When there is much loose connective tissue which offers comparatively little resistance to the diffusion of the infiltration, it is termed *U. oedematosa*. The predisposing causes of Urticaria may be divided into topical and systemic, but in this connection we need only consider the latter. It may be noted that "malaria is so strong a predisposing cause of Urticaria that some writers make a special variety of the affection, under the name of paludal urticaria". Much more therefore may we emphasise the eruption of plaques during the course of Dourine, for they are almost pathognomonic of that malady and the chief symptom for arriving at a correct diagnosis.

V. The primary cause of a plaque. The imprisonment of the trypanosoma or its developmental forms in the papillary layer of the skin is followed by the production of a toxin by the protozoon. The toxin produces a vaso-neurosis, with dilatation of the capillary vessels, and an increased secretion of lymph in the neighbourhood, confined to a circumscribed area. In blood drawn from a plaque shortly after its formation, the haematozoon is perfectly formed but small in size, and its undulating membrane is not so well marked as in the mature protozoon. This physical condition might point to the fact that it had developed from the amoeboid or plasmodial form, after the latter had been deposited in the plaque but this is a point which will require further research work. In Surra the course of the disease is marked by the absence of cutaneous plaques, and the eruption of a disseminated but localized Urticaria is far less common than in Dourine. This may perhaps indicate that the trypanosoma of Dourine elaborates a toxin of greater vaso-motor toxicity than the trypanosoma of Surra.

VI. The changes that take place in the form of the trypanosoma during the persistence of a plaque. The microscopical changes in the blood or sero-sanguinous fluid collected daily from the raised cutaneous tumour have been examined in two typical forms of Dourine plaques viz:

a) The oedematous plaque.

b) The flat shaped plaque.

a) The oedematous plaque. The plaque the subject of this description occurred in a mare and appeared on the morning of the 18th of August 1903; it was circular in form, 1,5 inches in diameter and slightly depressed in the centre. On the 19th its diameter had increased to 2 inches and on the third day the plaque became somewhat oval measuring 2,5 by 2,0 inches, and of meniscus form. During the two following days no change occurred in it, but between the 23rd and 25th the plaque gradually decreased in size and it had disappeared on the morning of the 26th. A full record of the number and the different forms of mature and developmental trypanosomata found daily in stained specimens of blood drawn from this plaque have been made. In the subjoined account it will only be necessary to refer to the mature

parasite and to its amoeboid and plasmodial forms, without entering into details with regard to their distinctive features. On the first day the trypanosoma was present in small numbers, each protozoon having only one macro- and micro-nucleus. In addition eight amoeboid forms were found in two cover-glass specimens of blood. These numbers gradually increased until the fourth day, when eighteen times more mature trypanosomata were present, but only half the number of developmental forms found on the first day were detected. On the fifth day the numbers remained stationary, and were almost identical with those noted during the previous twenty-four hours. On the sixth day there was a general diminution in numbers; the mature trypanosomata fell to one-tenth of the number seen on the fifth day. During the seventh, eighth and ninth days of the wheal, no mature organisms were discovered; the developmental forms however attained a maximum in number on the seventh, and gradually decreased during the two following days, the ratio of the actual numbers of the developmental forms of the trypanosoma found on the three days being 7, 4 and 2 respectively. On the 27th August, the day following the disappearance of the plaque, when examining several blood specimens drawn from the area previously occupied by the plaque, I found one trypanosoma only and this was undergoing longitudinal segmentation.

It would appear from the above observations that 1) one trypanosoma undergoing division was unable to restart the process of plaque formation, may be its premature removal stopped the further development of the plaque.

2) On the day after the disappearance of the plaque, when only a slight thickening of the part remained, either the whole of the toxin had been eliminated from the area, or sufficiently pure blood or sero-sanguinous fluid was then present to allow of a developmental form being changed into a mature trypanosoma, and later to favour its segmentation.

b) The flat disc shaped cutaneous plaque. The plaque under description which appeared on the right flank of a stallion during the night was observed on the morning of the 21st May 1903. It gradually increased in dimensions from the 23rd to the 27th on which date it was 1.25 inches diameter and from the 28th to the 31st May it became flatter. On the 1st June it had slightly decreased in diameter and continued to do so until it finally disappeared on the 5th. The trypanosoma was discovered in blood drawn from its centre, on the first and second days after the eruption of the plaque. On the following day 103 mature protozoa were found in one cover-glass preparation of blood collected from the same spot. The organisms increased and subsequently gradually decreased in numbers and were absent by the 6th day. On this latter date the plaque had increased in one direction only; and blood drawn from small punctures in the stationary portion of the plaque was found to contain the trypanosoma in small numbers, 4 to 5 in a cover-glass in each case respectively. On the seventh day the plaque decreased in height and extended beyond the spreading boundary. At each of the areas previously examined the mature protozoa increased in number from a minimum to a maximum, in one instance from 5 to 5518 in a cover-glass, and then decreased, finally disappearing, only leaving the developmental forms visible on staining. During the extension of this plaque to the spreading boundary the trypanosoma

was also found in this situation and later passed through the phases above described so that during the fifteen days persistence of the plaque, different phases in the life history of the trypanosoma were observable on different dates within the area of the same plaque. The changes which occurred in one portion of this plaque may be briefly noted.

1st day. Long, thin trypanosomata were visible, smaller than those observed in the mature protozoon, and each presented a single micro- and macro-nucleus.

2nd day. Trypanosomata increasing by longitudinal division on the usual way, were found.

3rd day. All forms were present, some with single others with double micro- and macro-nuclei. Individual organisms were longer than previously noted.

4th day. The following conditions were noted.

a) Single and double forms of micro- and macro-nuclei.

b) Some trypanosomata were swollen, much increased in size and undergoing longitudinal division.

c) Tadpole shapes, ball (kugel), amoeboid, and plasmodial developmental forms were detected.

d) Trypanosomata in course of fading were seen each exhibiting large chromatin bodies.

e) Many organisms exhibited micro- and macro-nuclei which were well stained and at the usual distance apart, but no protoplasm of the body was visible. The edges of the refractile undulating membranes could be detected, but they did not stain.

f) Chromatin bodies which stained were noticeable free in the plasma.

5th day. Illustrations of all forms and stages in the life history of the protozoon were visible. Many mature trypanosomata presented well marked vacuoles or halos at and around the seat of the micro-nucleus both before and after division. Individual organisms each with a single micro- and macro-nucleus exhibited a number of red granules within the body cavity. In addition the protoplasm of protozoa undergoing division, in the early, intermediate and final stages, just before separation, also contained granules.

6th day. A slight decrease in the number of the mature organisms was noticed while the number of developmental forms remained stationary.

7th day. There was a great decrease in the numbers of the mature forms, and a corresponding increase in the amoeboid and plasmodial.

8th day. Out of fifty four developmental forms only two mature trypanosomata were observed, one a young protozoon and the other was undergoing longitudinal division.

9th day. No trypanosomata were found, only amoeboid and plasmodial forms were discovered.

10th day. There were no more mature forms.

In the blood of horses suffering from Surra the trypanosomata frequently exhibit large numbers of granules, which are especially observable during the height of a paroxysm i. e. when the haematozoa are swarming, but they may be seen in still larger numbers when the protozoa have been swarming in the blood for several days, just previous to the death of the host. In 1891, I observed the Surra organism shoot forth a large number of these bright refractile particles into the blood

plasma, but although I have searched for a similar phenomenon I have not observed it in the case of the Dourine parasite. However I think the same changes would be seen to take place if the exact moment at which they occur could be correctly timed.

VII. The form in which trypanosomata leave plaques and again enter the general circulation. In plaques which persist for a number of days, certain changes take place in them as before noted, which only allow of the developmental forms of the Dourine trypanosoma returning to the general circulation, but in those plaques which only persist for a few hours up to a maximum of 48, the changes already described have not had time to take place, consequently the mature trypanosoma and any developmental forms that may be present, probably return, as such to the blood of the general circulation.

VIII. Reappearance of a plaque after an interval of a few days, on the original site. A certain percentage of plaques disappear completely and after an interval of one to several days reappear at the original site. This is to be accounted for by the fact that after the majority of the developmental forms have been carried away into the general circulation at the time of the absorption of fluid from the first plaque, some few failed to make their escape and were retained in situ. As long as toxin is present in the plaque, the developmental forms of the trypanosomata are unable to reach maturity, but as soon as a certain percentage or may be all the toxin has been eliminated, the inhibitory influence exercised over the growth of the amoeboid and plasmodial forms is removed, and their development into mature protozoa proceed unchecked. As they in turn mature the toxin re-accumulates and the previous changes again occur.

IX. The changes that take place in the trypanosoma in the vaginal mucus. As previously recorded the protozoon is generally introduced into the genital passage of the mare during coitus. It may accommodate itself to its new surroundings, and be found in the mucus located in the lower portion of the vagina, as early as the 17th or 18th day after intercourse. Whether the trypanosoma is present in the anterior portion of the vagina, or in the uterus, at an earlier date and gradually moves towards the vulva, has not been definitely decided but it would appear probable. If successive examinations are made during the course of the disease the parasite either in relatively large or small numbers may be found in the vaginal mucus for periods varying in length¹⁾. Sometimes the maximum number are present at the commencement of the paroxysm and then gradually diminish or they may appear later in the period. The result appears to be the same viz:—periods occur during which the mature parasite is absent from the vaginal mucus. Thus, as in the blood, so in vaginal mucus paroxysms and intermissions are marked. The two however do not coincide, for it frequently happens that subcutaneous plaques appear on the days during which the trypanosomata are absent from the vaginal mucus. Microscopic examination of the mucus elicits the fact that the trypanosomata may be present in small or in vast numbers, and that they in many instances undergo longitudinal division. In some specimens all the recognized

1) Since the above was written, in one case the trypanosoma has been noted in the vaginal mucus during a period of 45 days without any intermission.

forms, mature and developmental are to be observed, including the irregular and free chromatin bodies. Further within in a few days all the mature parasites may have disappeared and only the developmental forms be left. To account for this, it would appear probable that the destruction of the mature organisms may be due to the formation of a toxin as in the case of the cutaneous plaques.

X. The changes that take place at the seat of subcutaneous inoculation, in a susceptible animal, when Dourine blood containing the developmental forms of the trypanosoma is injected. The primary changes depend somewhat upon the quantity of blood injected, so that the symptoms exhibited depend more or less upon the mechanical strain to which the tissues were subjected. For example that of a donkey which was inoculated with 20 ccm of Dourine blood. On the day following the operation a tense swelling appeared at the seat of inoculation which began to decrease in dimensions after 36 hours and was finally absorbed in a period of eleven days. On the 19th day, slight thickening appeared at the seat of inoculation which persisted for 48 hours. On the 21st day a hot and red swelling occurred at the seat of injection which gradually increased in size until it attained its maximum dimensions, 36 hours later on the evening of the 23rd day. On the morning of the 27th day, it commenced to decrease and was finally absorbed by the 32nd day. Thickening of the skin however persisted until the 75th day. Stained specimens of blood or sero-sanguinous fluid were examined daily during the above period 75 days. Between the first and tenth days inclusive the changes at the seat of inoculation were of an inflammatory nature due to the presence of the injected blood. From the eleventh to the eighteenth day, a period of inaction intervened. During the above periods no trypanosomata or developmental forms were discovered. During the next twenty days, the 19th to the 38th inclusive, the fluid collected from the swelling only exhibited developmental forms of the organism, each presenting one micro- and macro-nucleus respectively. On the 39th day the mature trypanosoma was observed for the first time, and in addition, immature forms were present.

40th Day. No mature organisms were seen only immature forms being present.

41st Day. Trypanosomata were again present.

42nd to 46th Day. Mature organisms were absent.

48th to 75th Day. No mature trypanosomata could be found.

The period of incubation was a prolonged one. The first immature form was not observed until the 19th day, while the mature trypanosoma was not discovered until the 39th day. Periods during which the haematozoon was present and absent, varying in length followed, and finally during a period of 27 days no more mature parasites were found. The "materies morbi" of the disease entered the blood between the 27th and 32nd days following the experimental inoculation. This latter fact confirms the statement which I have already made with regard to the dates on which the eruption of plaques in horses takes place viz: from the 24th to the 34th days, but more frequently between the 30th and 33rd days after coitus or experimental inoculation.

XI. The blood from the general circulation of animal, the subject of Dourine, does not exhibit at all periods of the malady, the same power of reproducing the disease

in susceptible animals. Except during the height of the eruption of plaques it is unusual, during the course of Dourine, to find on microscopical examination the mature trypanosoma in the blood of the general circulation. In some animals the numbers of cutaneous plaques are comparatively few, appearing singly after long periods of intermission. In others they are very numerous, several appearing daily or every other day, and this eruption is continued for a period of several weeks duration. In the one instance, it is difficult and at times impossible in a susceptible animal unless a relatively large amount of blood be utilized, to reproduce the disease by subcutaneous inoculation, with blood collected from an animal half way through the period of a prolonged intermission. In the other instance, in an animal where the plaques are numerous, when one or more of them are constantly changing and its contents are being frequently voided into the general circulation, the inoculation of that animal's blood into susceptible animals is then of a positive character, for at such times mature trypanosomata or the developmental forms are always present in the blood. During the period of eruption of numerous plaques, a small dose of blood will reproduce the disease, whereas during a long intermission a dose 100 times as large may be required to bring about a positive result, or even the latter amount may prove unsuccessful for trypanosomata or their developmental forms are generally present in number under the first mentioned conditions while in the second case they are very sparsely scattered or entirely absent from the blood.

The number of cutaneous plaques which appear in animals suffering from Dourine varies considerably, and may be divided into three classes (a) those in which the cutaneous manifestations are well marked, (b) those in which they are badly marked, and (c) those cases in which they are absent.

a) As an illustration of the first class of cases I will give that of an Arab-stallion. This animal contracted the disease from an Australian mare and exhibited 85 plaques during a period extending over 278 days.

b) An Australian mare, contracted the disease from an Arab-stallion suffering from the latent form of Dourine. This animal developed four plaques 2 on the 116th day, one on the 150th and one on the 284th day after coitus.

c) A New Zealand mare covered by the same stallion succumbed in 75 days to paralysis without developing any plaques.

From my observations it would appear that the Arab horse is likely to contract a severe form of disease from the Australian breed, whereas the Australian variety as a rule develops a mild form of it from the Arab. But in the case of the mare which succumbed in 75 days, it would seem probable that the trypanosoma entered the system not by an abrasion in the vaginal mucous-membrane during coitus, but by the Fallopian tubes, for subsequent to the act of covering, the os-uteri was found to be fully dilated and the sperm had been ejaculated directly into the cavity of the uterus, so that a direct peritoneal infection may have resulted.

XII. Reasons for the time of disappearance of the plaque. As long as trypanosomata continue to increase in number in a patch, the toxin formed by them increases and the vasomotor disturbance becomes more marked, as evidenced by the increase in area and

swelling of the plaque, until finally the mature forms gradually succumb to the toxin. When all the mature forms are destroyed then during a period of several days only developmental forms are discoverable in sero-sanguinous fluid taken from a plaque. Gradually the toxin is eliminated from the plaque the vasomotor paresis lessens and finally disappears; the exuded serum is then taken up by the tissues and the plaque disappears.

XIII. Blood or sero-sanguinous fluid taken from a plaque is bactericidal in vitro! If the blood or sero-sanguinous fluid be collected from a well marked Dourine plaque, from which the mature trypanosomata have disappeared and it be mixed with a small quantity of blood containing mature trypanosomata from a second animal suffering from the same disease, it will be observed on microscopical examination of the mixed fluids, that the trypanosomata are sooner or later acted upon by a something contained in the serum, that their movements became slower and slower and finally cease and that later a granular disintegration of the parasite follows. On the other hand the organisms in the second or control specimen of blood containing trypanosomata without added serum, retain after many hours almost the same energy in their movements, as when the blood was first drawn and submitted to examination.

Conclusions. Whenever a cutaneous plaque appears during the course of Dourine, the trypanosoma or its developmental form will be found in it if a thorough microscopical examination of stained specimens be made.

During the initial stage of plaque formation in any part of the body, the trypanosoma is present there. At a later date as long as oedema persists, trypanosomata or their developmental forms are present somewhere in the oedematous area.

Although mature trypanosomata may not be discovered in the semen of a Stallion suffering from Dourine, if stained specimens be made and careful search be carried out, other forms than that of the mature protozoon will be discovered.

The cerebro-spinal fluid of animals which have succumbed to an acute form of the disease accompanied by nervous symptoms contains developmental forms of the organism.

Developmental forms of the organism are to be found in fluid collected from the secondary swelling arising at the seat of a subcutaneous inoculation, with blood from the general circulation of a Dourine affected horse, into a susceptible animal.

In the great majority of instancees, mares which contract Dourine from a Stallion during coitus will sooner or later develop the trypanosoma in the vaginal mucus, and it may be observed at intervals in the mucus during the remaining course of the disease.

Mares subcutaneously inoculated with virulent Dourine blood, in parts of the body other than the external genital organs, may exhibit cutaneous plaques and later cerebro-spinal symptoms, but the vaginal mucus in such cases when free from blood may remain a non-infective agent.

The vaginal mucus of a mare covered by a Dourine infected stallion has been found to contain the trypanosoma of Dourine some months later without the animal exhibiting any symptoms of the disease of ill health.

Flies can convey the trypanosoma of Dourine, and produce infection in healthy susceptible animals, as is the case with the Surra trypanosoma by direct inoculation, but no evidence has been brought forward, up to the present time, to show that flies act as an intermediary host.

Just as cattle and camels are capable of bearing the trypanosoma of Surra or its developmental forms in their blood, for periods of from one to three years, so certain breeds of horses can maintain the "materies morbi" of Dourine in their systems for periods of from one to four years.

Nachdruck verboten.

Ueber die Chromatinkörper der Krebs- und Sarkomparasiten des Menschen.

Von Prof. Dr. **Max Schüller**, Berlin.

Mit 1 Tafel.

Meine Ueberzeugung von der parasitären Entstehung des Krebses resp. Sarkoms beim Menschen stützt sich bekanntlich auf folgende Tatsachen, daß mir zuerst die Kultur bestimmter, anscheinend protozoenartiger Parasiten aus dem Gewebe verschiedener Krebs- und Sarkomgeschwülste des Menschen gelang, daß ich diese Parasiten Wochen und Monate lang lebend genau beobachten, sie wachsen, sich in ganz typischer Weise entwickeln sehen, ihre Degenerations- und Absterbeerscheinungen studieren konnte, daß ich ihre verschiedenen Entwicklungsformen histologisch im Gewebe, aber auch bei Anwendung einfacher Methoden am lebenden Krebspatienten nachweisen konnte, daß ich durch Injektion solcher Kulturen in verschiedene Organe bei Tieren carcinom- resp. sarkomähnliche Gewebsveränderungen erzeugen konnte. Meine ersten Mitteilungen hierüber erschienen im Centralbl. f. Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. Bd. XXVII. 1900. No. 14/15. 20. April: „Beitrag zur Aetiologie der Geschwülste“. Ausführlicher berichtete ich dann darüber in meinem Buche: „Die Parasiten im Krebs und Sarkom des Menschen“ mit 3 Tafeln und 64 Abbildungen im Texte; Jena (Gustav Fischer) 1901. Außerdem wurden einzelne Punkte von mir besonders besprochen in mehreren kleineren Aufsätzen (so u. a. in der Deutsch. med. Wochenschr. 1901. No. 36; im New York Medical Journal. 1902. 18. Jan. p. 127; in La Médecine moderne. 1902. 12. Febr. p. 58; im Centralbl. f. Chirurgie. 1902. No. 8. 22. Febr.; in der Wiener klinisch-therapeut. Wochenschr. 1902. No. 35). Betreffs ihrer Stellung zu den bisherigen pathologisch-anatomischen Auffassungen der Geschwulstentstehung wurden meine parasitären Krebsforschungen nach verschiedenen Richtungen erweitert und auch in ihrer praktischen Verwertbarkeit dargetan in meiner 1903 erschienenen Abhandlung „Parasitäre Krebsforschung und der Nachweis der Krebsparasiten am Lebenden“, mit Abbildungen; Berlin SW. 11 (Vogel & Kreienbrink).

Auf diese verschiedenen Arbeiten muß ich verweisen, da ich unmöglich hier alles wiederholen kann, auch weder Anlaß noch Neigung habe, nochmals auf frühere im wesentlichen meist grund- und haltlose Angriffe einzugehen. Die genaue Kenntnissnahme besonders meiner beiden oben genannten größeren Arbeiten ist wichtig, wenn nicht un-

erläßlich, auch für das richtige Verständnis der im folgenden niedergelegten neuen Mitteilungen.

Was die Gestalt der von mir gefundenen Parasiten anlangt, so erinnere ich kurz daran, daß ich größere Kapseln beschrieb, in welchen sich kleinere ovale oder rundliche Gebilde von bestimmter Struktur entwickeln. Letztere, welche ich „junge Organismen“ bezeichnete, finden sich aber auch zahlreich frei und von verschiedenster Größe resp. Kleinheit. Man muß sie sich als kuglige oder plattgedrückt ovale oder auch birnförmige Bläschen mit mehrfach durchbohrter Wandung vorstellen, welche letztere bei entsprechender Durchleuchtung von oben den Eindruck einer doppelt konturierten radiär gestreiften Randsaumes gewährt. An einzelnen lebenden Individuen der Parasiten bemerkt man in den Kulturen helle glänzende flottierende (pseudopodienartige) Fädchen, welche aus diesen feinen Oeffnungen ausgetreten sind und Bewegungen, Nahrungsaufnahme u. a. vermitteln. Die Bewegungen erfolgen aber auch durch wechselnde Kontraktionen der Körper. Im Innern derselben ist ein feinkörniges liches Protoplasma, an welchem frisch und im Gewebe ein Kern meist nicht zu erkennen ist, während in manchen anderen, besonders in Kulturen und in Präparaten von künstlich mit Kulturen infizierten Tieren, zuweilen ein Kern, dann auch Kerne in zwei-, drei-, vierfacher Teilung begriffen zu sehen waren. Viel häufiger aber findet man als eine Erscheinung schon weiter gediehener Entwicklung an Stelle des fein granulierten, aber zusammenhängenden Protoplasmas eine in diskrete kleinste, rund, spitzrund, eckig oder verschieden geformte „Körnchen“ zerfallene Masse, oder auch kleine runde, birnförmige oder plattgedrückt ovale Körperchen, an denen bei genauer Einstellung, ganz wie bei den freien „jungen Organismen“ ein doppelt konturierter radiärgestreifter Randsaum (Hülle) und im Innern ein feinkörniges Protoplasma zu erkennen ist. Auch die oben erwähnten kleinsten Gebilde, welche ich „Körnchen“ (Sporen) bezeichnete, kommen oft einzeln oder zu mehreren frei in und zwischen den Zellen vor.

Früher war es mein Bemühen, diese verschiedenen Entwicklungsstadien der Parasiten möglichst in ihren natürlichen Formen und in ihrem Bau event. auch in der von mir festgestellten charakteristischen Eigenfarbe deutlich erkennbar im Gewebe wieder nachzuweisen. Ich fand, daß dies leichter möglich sei unter Anwendung bestimmter wässriger Salzlösungen (s. meine früheren Arbeiten), als durch Färbungen, gab im Gegenteil mehrfach meiner damaligen Ueberzeugung Ausdruck, daß bei manchen Färbungen die sonst leicht erkennbaren Parasiten schwer oder gar nicht mehr von den zelligen Gebilden des Krebs- resp. Sarkomgewebes zu unterscheiden seien. Da nun überdies die Versuche, mit Doppelfärbungen sichere und vor allen Dingen vollständige Bilder der Parasiten im Krebsgewebe zu gewinnen, zu keinem durchschlagenden Erfolge geführt hatten, so mußte bisher vielen die Ueberzeugung von der Anwesenheit der Parasiten in den histologischen Präparaten als ein schwer lösbares Problem gelten.

Mich hatten nun mittlerweile schon seit längerer Zeit die fortgeführten Beobachtungen der Carcinom- und Sarkomkulturen sowie der Schnittpräparate folgende Bildungen kennen gelehrt: In älteren, seit vielen Monaten, bis zu 1½ Jahre lebend erhaltenen Kulturen von Sarkomen und Carcinomen fanden sich enorm zahlreiche kleinste — am ungefärbten Präparate untersucht — hellgelbliche glänzende bewegliche Körperchen von meist runder, weniger kugelig, eher scheiben-

artiger, oder ovaler, oder birnenförmiger Gestalt, seltener von stumpfeckiger oder verschiedener anderer Form (Größe etwa von $1-2-2\frac{1}{2} \mu$). An denselben sieht man bei 1000-facher Vergrößerung (Carl Zeiss, Apochrom. $\frac{2 \text{ Mill.}}{1,30}$ Kompens.-Okular 8) oft in der Mitte einen vertieften

Punkt, an den größeren eine vertiefte Delle, die umgeben ist von einem hellen dicken Wulst. Oft scheint bei den Bewegungen der Körperchen der eine oder der andere Teil der Peripherie wie eine kleine Verdickung oder Erhöhung hervorzutreten. Besonders an den größeren runden Körperchen sind oft 2 oder 3 an einander gegenüberliegenden Stellen dieser Art zu bemerken. Dieselben machen beim Wechsel der Bewegungen in der Tat oft den Eindruck von Anschwellungen, zumal wenn die Körperchen mehr im Profil gesehen werden. Sie traten noch beträchtlicher hervor bei der Untersuchung einer solchen Kultur in dem Ultramikroskope von C. Zeiss. Hier machten die Körperchen den Eindruck von wulstigen Kränzen oder Kringeln, an denen bei den Bewegungen deutliche einzelne stärkere Anschwellungen zu bemerken waren. Bei den birnenförmigen Körperchen, welche oft auch mit einem kurzen, zuweilen auch noch eine kleine Verdickung tragenden Faden versehen sind, bemerkt man ebenfalls in der Mitte eine Vertiefung und leichte Anschwellungen entweder an den seitlichen Parteen des peripheren Wulstes, oder oben und unten, also entweder an den Polen des schmalen oder des längeren Durchmessers. Bei den seltener vorkommenden hantel- oder doppelkeulenförmigen Körperchen ist gewöhnlich der eine Teil größer, der andere kleiner, und dementsprechend sind gewöhnlich nur in dem größeren Kugel- oder Keulenteile die eben geschilderte Vertiefung und die Anschwellungen zu bemerken.

Die Hüllen der Parasiten sind in solchen älteren Kulturen vielfach vollkommen zerfallen, oder, bald reichlich, bald vereinzelt, meist nur in den Formen der kleinsten „jungen Organismen“ vertreten.

Bei der Behandlung mit bestimmten Färbungen treten nun in diesen kleinsten Körperchen intensiv gefärbte Ringe auf, und im allgemeinen entspricht einem Körperchen ein gefärbter Ring. Diese sind etwa $1-1\frac{1}{2}-2 \mu$ breit (gemessen mit Apochrom. 2 Mill. und Meßokular 6 von Carl Zeiss). Bei sorgfältiger Anwendung von Hämatoxylin oder Hämatoxylin-Eosin sind sie stets mit der Kernfarbe, also mit Hämatoxylin, gesättigt blau gefärbt, wobei stets an zwei oder drei gegenüberliegenden Stellen des Ringes dickere intensiv blau gefärbte Anschwellungen (gewöhnlich nach innen zu gewendet) bemerkbar sind, während der Innenraum hell oder lichtrötlich gefärbt erscheint. Gleichermäßen sind bei der Romanowsky-Färbung, welche ich neuerdings gewöhnlich nach der von J. H. Wright (in Boston) angegebenen Modifikation ausführe, die Ringe und die verdickten Parteen desselben dunkelblau, der Innenraum hellrot gefärbt. Bei Färbung mit Thionin habe ich ebenfalls die Ringe und ihre Anschwellungen blau oder dunkelviolet, den Innenraum hellrötlich gesehen. Die kleinen leeren Hüllen der „jungen Organismen“ erscheinen stets hellrosa, rötlich violett oder auch bräunlichrot. Die „Ringe“ sind nicht immer ganz rund, noch auch immer geschlossen; zuweilen erscheinen sie an einer Stelle offen, geschlossen also dann nur durch den farblosen Teil; häufiger erscheinen sie seitlich wie etwas zusammengedrückt, zuweilen auch mehr länglich oval. Die gefärbten Anschwellungen werden nie vermißt, nur sind sie bisweilen,

besonders wenn drei oder vier vorhanden sind, mehr flach, in anderen Fällen mehr zum kleinen Haufen zusammengedrängt. Bei den birnen- und keulenförmigen, wie schon bemerkt, oft mit stiel- oder fadenförmigen Anhängseln versehenen Körperchen haben die Ringe eine der Gestalt des dicken Teiles entsprechende Form, die gefärbten Anschwellungen finden sich entweder an den beiden seitlichen Partien an den Polen des kurzen queren Durchmessers, und erscheinen dann gleichmäßig dick; oder am oberen bogigen Teile mehr flach und im gegenüberliegenden unteren Winkel, diesen stärker oder flacher zum Teil ausfüllend, endlich auch noch an drei gegenüberliegenden Stellen. Ich gebe auf der Tafel zunächst die Zeichnungen der einzelnen Typen dieser Körperchen absichtlich in mehrfach vergrößertem Maßstabe, um hieran die Anordnung der farbigen Anschwellungen zu zeigen. Neben diesen lasse ich Abbildungen in der beobachteten Größe (1:1000—1500) von verschiedenen Kulturen folgen.

In anderen Kulturen mit noch zahlreichen gut erhaltenen kleinen Hüllen (von den kleinen jungen Organismen) konnte ich auch solche finden, welche bei den genannten Färbungen noch Ringe im Innern der Hüllen haben. Bei einigen kann man sie darin rosettenartig dicht aneinandergesetzt sehen; bei andern sind die kleinen Rosetten aus kleinen keulenförmigen Körperchen zusammengesetzt, bei welchen in gleicher Weise die Ringe mehr oder weniger deutlich ausgeprägt, stets intensiv blau gefärbt sind, während die Hüllen hellrot erscheinen (bei der Färbung nach Wright). Aber auch in relativ jungen gut gelungenen Carcinomkulturen fand ich neben zahlreichen „jungen Organismen“ verschiedener Größe in den von mir beschriebenen und abgebildeten charakteristischen Formen außerdem schon vereinzelt geplatze Hüllen oder Kapseln mit kleinsten Körperchen sowie Haufen von letzteren, die ich früher „Körner“ nannte, welche bei den genannten Färbungen die eben beschriebenen Ringe erscheinen lassen.

Einen weiteren Aufschluß über den Zusammenhang dieser Ringe mit den größeren Entwicklungsformen der Parasiten dürfte endlich noch die Beobachtung ungefärbter Proben einer lange lebend erhaltenen, dann abgetöteten Carcinomkultur geben, die ich eben untersuchte. Sie enthält noch vereinzelt gut erhaltene Exemplare derjenigen Entwicklungsform, welche ich früher „Brutkapseln“ bezeichnet habe, in welchen durch die Hülle hindurch zahlreiche kleine „junge Organismen“ zu erkennen sind. Uebte ich über einer solchen „Brutkapsel“ einen Druck auf das Deckgläschen aus, so platzte die Hülle der Kapsel und es traten in großer Anzahl die kleinen jungen Organismen heraus. Diese waren meist schön rund, von verschiedener Größe resp. Kleinheit, im Querdurchmesser durchschnittlich etwa $4\ \mu$, die Hüllen zum Teil gleichfalls zerrissen und gefaltet; aber in andern sah man noch kleinere runde Scheibchen, wie tonnen-, birn- und keulenförmige gelblichglänzende Körperchen, vereinzelt auch Körperchen mit dickem Kopf und dünnem geißelartigen Ende; — also dieselben Körperchen, welche in den vorher beschriebenen älteren Kulturen fast ausschließlich gefunden wurden, und in welchen bei der genannten Färbung die gefärbten Ringe hervortreten.

In den auf der Tafel befindlichen Abbildungen habe ich meist bei Vergrößerung 1:1000, nur vereinzelt bei 1:1500 diese Körperchen nach doppelt gefärbten Präparaten aus verschiedenen Carcinom und Sarkom-

kulturen wiedergegeben. Ich habe dabei nicht nur die Farbendifferenzen der Teile, sondern auch die charakteristischen Formen und Verdickungen genau berücksichtigt. Außerdem habe ich einige der Gruppierungen der Körper in den Hüllen „junger Organismen“ abgebildet, sowie andere Erscheinungsformen, zumal Schrumpfformen derselben, welche später für das Verständnis mancher Beobachtungen an Schnitten Bedeutung gewinnen. Außer diesen Dingen fanden sich in mehreren älteren Kulturen, zumal von Sarkomen, außerordentlich reichlich längliche, fast spermatozoenähnliche Körperchen mit einem gelblich glänzenden, meist länglichen, spitzovalen, lanzettförmigen Kopfe und mit einem kurzen Schwanzteile, welche gefärbt die Konturen des Kopftheiles, aber wesentlich dünner wie bei den vorher beschriebenen birnförmigen Körperchen, ebenfalls blau und ebenso gefärbte kleine Verdickungen unten und oben, hier auch oft noch eine kleine außen aufritzende blaugefärbte Anschwellung haben, während die Innenpartie meist ungefärbt erscheint. Wie und ob überhaupt diese Gebilde mit den Parasiten in Verbindung stehen, ließ sich nicht sicher ermitteln. Ich werde deshalb im weiteren auf sie keine Rücksicht nehmen und mich nur auf die vorher geschilderten Körper beziehen.

Diese charakteristischen Ringbildungen nenne ich — a potiori fit denominatio — „Chromatinkörper“. Ich nehme an, daß sie die Chromatinsubstanz der einzelnen „Sporen“ der Krebs- und Sarkomparasiten, die ich früher mit „Körnchen“ bezeichnete, darstellen. Wie sie sich in den bisher von mir gefundenen Entwicklungskreis der Parasiten einfügen, werde ich unten, soweit dies möglich ist, genauer darzustellen suchen. Nur mag hier schon gestattet sein, darauf hinzuweisen, daß die durchaus typische Anordnung der Chromatinsubstanz in diesen Entwicklungsformen der Carcinom- und Sarkomparasiten ein Analogon bildet zu der ebenso charakteristischen, wie typischen, wenn auch anders geformten Erscheinung der Chromatinsubstanz bei einigen neuerdings genauer studierten tropischen protozoischen Parasiten des Menschen, wie sie z. B. von J. H. Wright in der Aleppobeule (Delhi-Geschwür), von S. R. Christophers in einer Art indischer Konkurrenzkrankheit der Malaria u. a. m. nachgewiesen wurde. (Man vergl. unter anderen die bezüglichen Referate über diese Arbeiten im Centralbl. f. Bakteriöl., Parasitenkunde und Infektionskrankheiten. 1904.)

Ich muß noch besonders hervorheben, daß die von mir gefundenen Chromatinkörper wesentlich nur bei den oben genannten Färbungen und natürlich nur bei sehr sauberer und zeitlich genau festzustellender Anwendung klar zur Erscheinung kommen, während das bei nicht sorgfältiger Färbung, bei Anwendung anderer Farben oder bei anderweitiger Behandlung nicht, oder nur unvollkommen geschieht. Es treten dann nur mehr oder weniger diffuse Färbungen auf, auch zuweilen Mischfarben, bei denen eine scharfe Differenzierung von Rand und Innenraum und vor allen Dingen auch der farbigen Anschwellungen fehlt. Sind die Chromatinkörper noch in der Hülle eines kleinen „jungen Organismus“, so sind sie dann meist nur undeutlich, oder gar nicht repräsentiert; oft ist dann überhaupt nur Hülle und Inhalt des „jungen Organismus“ durch geringe Nuancen im Farbenton oder in der Farbenintensität unterschieden. Die einzelnen „Körner“ oder Sporen, welche die Chromatinkörper hervortreten lassen, sind bei unvollkommener oder bei hierfür unzureichender Protoplasmafärbung nur als mehr oder weniger große runde

Punkte oder Flecken verschiedener Form zu sehen. In den Gruppierungen (Rosetten) und Reihen der Chromatinkörper erscheinen diese, selbst wenn man sie erkennen kann, dann nicht scharf voneinander getrennt, stellen mehr oder weniger zusammenhängende Massen dar, sind überdies auch oft nicht genügend differenziert. Alle diese Dinge muß man aber doch kennen, weil sie, wie es scheint, noch leichter bei der Färbung in Schnitten vorkommen können. Uebrigens sind sie an sich ebenfalls ganz charakteristisch, und wenn man sich ihrer Bedeutung resp. ihrer von mir vielfach sichergestellten Entstehungsweise erinnert, nicht zu verwechseln, noch zu übersehen. Die verschiedenen Erfolge der Färbung, auf welche wahrscheinlich auch das Alter und die jeweilige sonstige Beschaffenheit dieser kleinsten Objekte noch einigen Einfluß haben wird, lassen sich mit absoluter Sicherheit nicht immer vermeiden. Ich bemerke betreffs der Hämatoxylinkombination, daß ich hier das Hämatoxylin weit energischer einwirken lasse, als ich es früher tat. Doch scheinen mir genauere Zeitangaben sowohl für diese, wie für die andern benutzten Färbungen zwecklos, weil die Färbekraft der Farben verschieden ist, ebenso wie die Objekte nicht immer gleich sind. Der Einzelne muß nach der Färbekraft seiner jeweiligen Farben selber ausprobieren, wie er die reinsten Ergebnisse erreichen kann. Dasselbe gilt, wie ich gleich im voraus bemerke, im erhöhten Maße für die Darstellung der Chromatinkörper in Schnitten.

Entscheidende Aufklärung über die Bedeutung dieser Entwicklungsformen der aus Krebs und Sarkom kultivierten Parasiten brachten die Untersuchungen meiner Tierpräparate, d. h. der Präparate von mit meinen Kulturen infizierten Tieren, von denen ich bei der Fertigstellung meines Buches („Ueber die Parasiten im Krebs und Sarkom des Menschen“, 1901) erst den allerkleinsten Teil verwenden konnte. Ich habe sie seitdem ausgiebig fortgesetzt. Ich will hier nur kurz bemerken, daß die Parasiten sich keineswegs bloß in den Organen und an den Stellen, wo sie injiziert worden waren, vorfanden, sondern regelmäßig auch in verschiedenen anderen Organen, wie z. B. in der Leber, in den Lungen und besonders in näher und ferner gelegenen Lymphdrüsen. An allen diesen Stellen sind auch stets mehr oder minder ausgesprochene Veränderungen an den Zellen und Geweben gesetzt worden, wie ich es früher schon in meinem Buche angegeben habe. Am meisten ausgesprochen fanden sich die Veränderungen aber in den Fällen, in welchen die Parasiten direkt in bestimmte Organe injiziert worden waren. So habe ich vorzüglich in der Niere, welches Organ ich wegen seines Epithelreichtums besonders geeignet hielt, um die Einwirkung der Parasiten auf die Epithelien zu studieren, nach der direkten Injektion von lebender Carcinomkultur hochinteressante und an einzelnen Stellen recht bedeutende eigenartige Erkrankungen des Nierengewebes erzielt, die weder zur Entzündung, noch zur einfachen Hyperplasie gerechnet werden können. Bei beträchtlicher Vergrößerung des Nierenumfangs sah ich zwar keine fertige Carcinomgeschwulst, weil für die Entstehung einer solchen die Tiere nach derartigen Organinjektionen nicht lange genug (nur wenige Wochen) am Leben bleiben, wohl aber ganz auffällige atypische Epithelwucherungen mit den für Carcinom charakteristischen Kernveränderungen und „Mitosen“. Diese Wucherungen gehen aus von den Epithelien der Harnkanälchen. Es finden sich an den Querschnitten der sonst bekanntlich mit einreihigen Epithelien ausgekleideten Nierenkanälchen zwei-, drei- und vierfache Zell-

reihen, oder auch die Räume vollkommen ausgefüllt, sowie kleinere und größere diffuse Herde von Epithelien, daneben aufgelockerte Parteen mit adenomähnlichen mit Epithelien und Epithelschichten besetzten Wülsten; außerdem sieht man, wenn die Harnkanälchen der Länge nach im Schnitt getroffen sind; Zapfen und längliche, verschieden breite Herde atypischer Epithelwucherungen, in denen auch dann epithelperlenähnliche Anlagen vorkommen. An allen diesen Stellen ist der an sich so einfache und klare Bau der Niere mehr oder weniger verwischt oder vollkommen aufgehoben und man kann hier mit vollkommen berechtigter Ueberzeugung von einer beginnenden Carcinomentwicklung sprechen. Das lehrt noch mehr die Vergleichung mit den noch scheinbar gesunden Nachbarparteen der Niere beim Nierenkrebs vom Menschen, auf welche ich hier jedoch nicht näher eingehen will, da diese histologischen Verhältnisse der ersten Krebsentstehung überhaupt in besonderer Arbeit gewürdigt werden müssen. Ich bin aber gern bereit, die betreffenden Objekte den Interessenten zu demonstrieren. Gerade die scheinbar noch gesunden Parteen der menschlichen Niere muß man mit diesen experimentell durch Injektion von Carcinomkultur am Tier erzeugten hochinteressanten Gewebsveränderungen vergleichen; denn diese lassen in der Tat die gleichen Gewebsveränderungen wie die ersten Anfänge der Krebsentwicklung genau erkennen, was in der fertig ausgebildeten Krebsgeschwulst bei Nierenkrebs am Menschen meist überhaupt nicht mehr möglich ist. Meine Tierpräparate sind deshalb besonders wertvoll, weil sie, wie es bisher nicht geschehen und auch kaum möglich war, diese wichtigen ersten carcinomatösen Gewebsveränderungen, die ersten Anfänge und Ausgänge der Krebserkrankung auch im menschlichen Nierengewebe verstehen lernen.

Was nun die Parasiten in meinen Tierpräparaten betrifft, die ja hier positiv vorhanden sein mußten, da sie von mir in verhältnismäßig überreichlicher Menge unter allen früher beschriebenen Kautelen lebenswarm und nach unmittelbar vorher vorgenommener mikroskopischer Feststellung auch wirklich lebend in das Organ eingespritzt worden waren, so ließen sich dieselben auch überall auf die verschiedenste Weise, an ihrer charakteristischen Form und Struktur leicht erkennbar, anscheinend erheblich, stellenweise ungeheuer vermehrt im Nierengewebe und speziell in und zwischen den gewucherten Epithelien nachweisen. Als ich nun, um das Verhalten der Kerne der Epithelien und die Beziehungen der Parasiten zu denselben genauer zu studieren, intensiv verschiedene Kernfärbungen, besonders aber Hämatoxylin für sich oder mit Eosin unter anderem einwirken ließ, zeigte es sich, daß überall da, wo vorher deutlich erkennbar die Parasiten lagen, dieselben eigentümlichen Gebilde, welche ich eben als Ringe resp. Chromatinkörper in den Kulturen kennen gelehrt habe — also nicht Kerne im eigentlichen Sinne — hervortreten. Ich bemerkte bei gut gelungener Färbung stets einen oder mehrere Ringe, sehr häufig auch mehrere rosettenartig angeordnet, oder auch zu einer geraden oder gekreuzten Linie aneinander gereiht, in einer hellen, oft gar nicht gefärbten Masse, bei Doppelfärbungen in einer lichttrüben zart konturierten Stelle. Mit Hämatoxylin erscheinen die Ringe rund oder auch seitlich eingedrückt, zuweilen mehr länglich-oval, intensiv blaugefärbt, an zwei einander gegenüberliegenden Punkten mit intensiv blauen Anschwellungen, oder auch mit drei (seltner vier) flacheren stark gefärbten Verdickungen. Das

Innere der Ringe ist ungefärbt oder ganz blaß. Bei richtiger Hämatoxylin-Eosin-Färbung erscheinen die Ringe mit den Anschwellungen ebenfalls stets intensiv dunkelblau, das Innere hellrötlich; desgleichen bei Wrigths modifizierter Romanowsky-Färbung blau oder violett-blau, das Innere hellrot. Zuweilen sah ich im Innern des Ringes die gefärbten Polschwellungen verbunden durch eine feine rote Linie. Letzteres scheint mir auf eine beginnende Teilung hinzuweisen, von welcher ich auch häufig an der äußeren Umrandung mehr oder weniger ausgesprochen Andeutungen sah. — Bei dieser Art der Färbung tritt die zarte Hülle der Sporen und die früher von mir beschriebene Struktur der Kapsel der jungen Organismen, besonders die radiäre Streifung, sowie ihre plastische Erscheinung gewöhnlich ganz zurück, ist, wie bemerkt, oft nur durch eine helle Stelle mit kaum oder nur eben erkennbarem Kontur angedeutet. Bei Doppelfärbungen, von denen ich außer den erwähnten, gelegentlich noch Hämatoxylin mit Karbolfuchsin, mit van Gieson, Löfflers Methylenblau mit Eosin u. a. versuchte, erscheint die Hülle der „jungen Organismen“ mehr oder weniger scharf in roter Farbe. Zuweilen konnte ich bei manchen sogar einzelne Fächer des Innenraums zum Ausdruck bringen. Der Durchmesser der Ringe ist auch hier, gemessen mit der Immersion von Carl Zeiss $\frac{2 \text{ Mill.}}{1.30}$ und dem Meßokular 6, 1–2 μ . Es kommen hier gar nicht selten die größeren Formen vor. Die Fig. 1b gibt sie in absichtlich vergrößertem Maßstabe.

Man bemerkt die Chromatinkörper nicht bloß in den „jungen Organismen“ und mit diesen in „größeren Kapseln“, sondern, sowohl die runden wie die birnen- oder keulenförmigen, auch häufig einzeln oder nur zu zweien oder dreien in und zwischen den Zellen, oft an der Basis der Epithelzellen, deren Kerne zuweilen wie geschrumpft, andererseits aber auch größer erscheinen; oder sie finden sich geteilt oder in Mitose. Aber, wie ich hier nur kurz hervorheben will, glaube ich sie nicht nur neben dem veränderten oder sich teilenden Kerne gesehen, sondern zweifellos öfter einen einzelnen Chromatinkörper mitten im Kern festgestellt zu haben, deutlich charakterisiert durch die oben angegebenen Merkmale. In anderen fand ich mehrere. Es macht dann oft den Eindruck, daß der Kern von den Chromatinkörpern mehr oder weniger vollkommen okkupiert und zerstört ist. Man sieht dann nur noch bei wechselnder Einstellung gewissermaßen faltig verzogene Reste des Kernes oder der Kernhülle den Chromatinkörpern anliegen. Diese selber erscheinen in den Zellen wie im Kerne oft zu 6, 8 oder mehr, nicht selten auch in rosettenförmiger Anordnung. Dergleichen finden sich aber auch vielfach außerhalb der Epithelzellen, zwischen denselben, selbst innerhalb des interstitiellen Bindegewebes, in den Lymphgefäßen und endlich vermengt mit zahlreichen einzelnen Chromatinkörpern in langen, schmalen feinkörnigen Gängen mit zerfallenen Zellen, welche die Niere durchsetzen, da, wo ich bei den früheren Untersuchungen und an anders behandelten Schnitten Heerstraßen der Parasiten in verschiedenen Entwicklungsstadien festgestellt habe. Die rosettenartige Anordnung der Chromatinkörper kann natürlich leicht für Mitosenbildung der Zellkerne genommen werden. Abgesehen davon, daß ich ihre Zugehörigkeit zu den Parasiten schon bei den Kulturen hervorhob, habe ich sie hier vielfach vorher an anders behandelten Schnitten dargetan. An den besonders für die Darstellung der Chromatinkörper der Parasiten vorgefärbten

Schnitten dagegen lehrte die Anwendung stärkerer Vergrößerungen (bis zu 2500) und hellsten Lichtes, daß die Ringe meist ganz unabhängig voneinander in der hellen Masse liegen, gewissermaßen in verschiedenen Richtungen hineingetaucht sind, und daß jeder einzelne die früher beschriebenen Merkmale trägt, welche genau so die einzeln oder in geringerer Zahl vorkommenden Ringe charakterisieren. Zuweilen sieht man übrigens die Rosetten nicht von runden, sondern kurzen keulenförmigen Körperchen gebildet, bei welchen der den Chromatinkörper bildende Ring in dem dicken Teile zu bemerken ist. Auch diese Anordnung habe ich bei Kulturen gefunden, wie ich auch schon oben angegeben habe. Ich werde später darauf zurückkommen.

An Kernen, in welche Chromatinkörper eingedrungen sind, konnte ich nicht selten eine trichterförmige Einsenkung bemerken, welche vielleicht als mechanischer Ausdruck des Eindringens aufzufassen ist, wenn sie nicht überhaupt Ausdruck schon beginnender Schrumpfung ist. Umgekehrt fallen an den Epithelien sehr große, wie ausgeleerte Blasen aussehende Kerne auf, vielleicht solche, aus denen vorher darin befindliche Chromatinkörper wieder ausgetreten sind. Bei anderen derartigen Kernen sind die hohlen Kernreste teilweise eingekrempelt. Daß es nicht etwa in den Zellen befindliche leere Parasitenhüllen sind, wird durch die Kernfärbung deutlich, welche auch diese dünnen Reste stets annehmen, während die Parasitenhüllen, wie schon oben angegeben, zumal wenn sie leer sind, wenn überhaupt, stets hellrot gefärbt erscheinen. Im weiteren können diese Kernreste vollkommen faltig zusammenschrumpfen, so daß sie dann zuweilen den gleich zu erwähnenden Schrumpfsresten der Chromatinkörper ähnlich sein können.

Diese Verhältnisse sind in der Tat recht schwierig zu deuten. Ich kann nur betonen, daß ich nach dem Studium dieser Präparate zu der Ueberzeugung gekommen bin, daß die die Chromatinkörper tragenden Sporen nicht nur in die Zelle, sondern auch in den Kern eindringen, und hier vollkommen eine Phase weiterer Entwicklung, Vermehrung durch Teilung, Rosettenbildung durchmachen können, daß die neugebildeten Sporen ebenso wieder austreten und in die benachbarten Zellen resp. zwischen dieselben eindringen können, daß aber auch einzelne in dem blasig vergrößerten Kern zurückbleiben können, die dann erst nach vollkommener Zerstörung der Zelle frei werden.

Nicht selten findet man Schnitte, bei welchen die Ringe der Chromatinkörper nicht oder unvollständig getrennt, oft auch zugleich die typischen Anschwellungen nicht oder nicht scharf hervortreten. Dann erscheinen die Chromatinkörper in eigentümlichen, einem vielfach gewundenen Bande oder einer Koralle ähnlichen, oder in regelmäßig oder unregelmäßig höckerigen Konglomeraten, welche an sich auch charakteristisch sind und scharf von den Kernen der Zellen zu unterscheiden sind, welche man aus gleich zu erwähnenden Gründen gleichfalls kennen und sich genau einprägen muß. Sie sind, wie es scheint, wesentlich infolge mangelhafter nicht genügend differenzierender Färbung, weniger durch den Zustand der Präparate, bedingt. Infolgedessen färben sich die Körperchen mehr diffus, oft in einer Mischfarbe; oder wenn die Chromatinsubstanz einzelner ausgesprochen ist, ist das die einzelnen Körperchen im „jungen Organismus“ verbindende Protoplasma mitgefärbt, oder die Hüllen sind zu dunkel und lassen nun die Körperchen nur undeutlich erkennen. Weniger wahrscheinlich dürfte die Ursache wohl in nicht genügender Ausbildung,

sozusagen in ungenügender biologischer Vollendung der Chromatinkörper zu suchen sein. Denn ich habe öfters sehr vollkommene Färbungen der Chromatinkörper an Schnitten erreicht, während andere Schnitte desselben Präparates, von anderen gefärbt, sie nur mehr oder weniger mangelhaft hervortreten ließen. Mit guter Beleuchtung bei entsprechend starker Vergrößerung lassen sich aber auch die weniger gelungenen oder unvollkommen getrennten und gefärbten ebenso wie die in geschrumpftem Zustande erscheinenden Gruppierungen der Chromatinkörper doch in weitaus den meisten Fällen ohne Schwierigkeit erkennen. Manche dieser so entstandenen Bildungen gewinnen eine besondere Bedeutung deswegen, weil sie manchen unregelmäßigen Mitosen und noch mehr den eigentümlichen indirekten Fragmentierungen und anderen Kernabweichungen sehr ähnlich sehen, welche man schon früher im Krebsgewebe vom Menschen wiederholt hervorgehoben hat.

Nach meinen Beobachtungen können auch abgestorbene Parasiten mit Hülle und undeutlich gewordenen Chromatinkörpern die eigentümlichen Formen eines schmal zusammengekrüllten dünnen Blattes annehmen. Man sieht solche Erscheinungen an vielen Stellen der gefärbten Präparate. Auch hier hat mich eine methodische, schrittweise nach den verschiedenen Graden durchgeführte Prüfung der Beobachtungen zu der eben ausgesprochenen Ueberzeugung gebracht. Es ist ja ohnehin a priori anzunehmen, daß auch von diesen kleinsten Parasitenformen viele im Kampf mit den Kräften der lebenden Zellen und anderen Einflüssen zu Grunde gehen. Ihre „Leichen“ können nicht ohne weiteres verschwinden, sind sie auch mikroskopisch klein. Sie sind wohl auch um so eher mikroskopisch erkennbar, weil die rein physikalischen Bestandteile auch der kleinsten Parasiten der Zerstörung und Resorption größeren Widerstand entgegensetzen, als die abgestorbenen Zellen. Sie bleiben auch im Gegensatz zu letzteren länger färbbar. Da diese Beobachtung eine Bestätigung auch im Krebsgewebe des Menschen findet, so wollte ich mir nicht entgehen lassen, darauf hinzuweisen. Auch diese Erscheinungen gehören den Parasiten an und müssen gekannt sein. Das Gleiche gilt für manche hyaline Bildungen, welche in diesen Tierpräparaten jedoch verhältnismäßig seltener zu beobachten sind, viel häufiger beim Menschen. Wo man sie sieht, kann man gerade bei der hier besprochenen Färbung häufig auch noch einen oder ein paar meist deformierte, ganz blasse atrophische oder stark geschrumpfte Chromatinkörper auf den stets rot gefärbten hyalinen Massen bemerken.

Ich kann diese Dinge hier nicht weiter verfolgen und verspare mir die genaue Darstellung der Beziehungen der Chromatinkörper wie der Parasiten selber zu den histologischen Veränderungen des Krebs- resp. Sarkomprozesses für eine besondere Arbeit.

Von den verschiedenen Erscheinungsformen der Chromatinkörper in kleinen und größeren „jungen Organismen“, in „Körnchen“- und „Brutkapseln“, sowie in den Epithelzellen und Kernen meiner Tierpräparate lasse ich einige Abbildungen folgen, nach Gestalt und Färbung tunlichst genau bei einer Vergrößerung 1 : 1000 (s. Tafel Fig. III).

Ich gehe hier nun gleich dazu über, hervorzuheben, daß man genau die gleichen Bildungen der Ringe, welche ich als Chromatinkörper der Parasiten bezeichnete, stets, oft in ungeheurer Menge, in den verschiedensten Krebspräparaten vom Menschen, welche färberisch in gleicher Weise behandelt worden waren wie meine

Tierpräparate, und, soweit ich nach allerdings weniger zahlreichen Untersuchungen von Sarkompräparaten urteilen darf, auch in diesen finden kann. Die Form der Chromatinkörper, die Anordnung und intensive Färbung der Chromatinanhäufungen ist die gleiche, die Größe der Chromatinkörper im allgemeinen ungefähr dieselbe, wie sie vorher nach den Kulturen und nach den Präparaten der mit Kulturen infizierten Tiere angegeben wurde. Auch ihr Vorkommen und ihre Beziehungen zu den Bestandteilen der Gewebe lassen sich in gleicher Weise, ja in vieler Hinsicht genauer und sicherer verfolgen. Sie werden ebenso einzeln oder in hantelähnlichen Doppelformen, oder zu zweien, dreien, vierten zwischen den Zellen angetroffen, so besonders reichlich in der Haut bei Hautcarcinomen und in bestimmten Partien der Schleimhautdecke und der Oberhaut über tieferen Carcinomen, z. B. beim Zungenkarzinom, oder über Sarkomen, aber auch innerhalb aller anderen Carcinome und mancher Sarkome. Sie kommen ebenso innerhalb der Zellen, wie mancher Kerne, zumal in den Epithelien, aber auch bei manchen Sarkomen vor. Nicht selten trifft man sie, zumal oft bei Drüseneschläuchen resp. bei Querschnitten von solchen, an oder unterhalb der Basis von Epithelzellen. An solchen Stellen lassen sich oft Teilungen der benachbarten Zellkerne, Vermehrung der Epithelien bemerken. Die Chromatinkörper finden sich nicht nur in den kleineren Gruppen von 3—5, sondern häufig zu 6—8 und mehr in länglichen, Z- oder T- oder kreuzförmigen oder rosettenartigen Gruppierungen. Diese letzteren Typen habe ich überall, auch in den Sarkomen, angetroffen, aber kaum irgendwo so häufig und schöner als beim Magencarcinom. Vielfach ist die Hülle an der hellroten Färbung in der unmittelbaren Umgebung dieser Gruppierung noch zu erkennen, bei anderen ist sie kaum noch angedeutet. Die Gruppierungen liegen dann in einer helleren Stelle, wie schon bei den Tierpräparaten angegeben. Sie finden sich außerordentlich oft zwischen den Zellen, aber auch nicht selten in den Zellen. Diese mitosenartigen Gruppierungen sind dann, zumal wenn sie aus sehr kleinen, vielleicht auch durch die Färbung nicht genügend differenzierten Chromatinkörpern gebildet sind, oft schwer von den Mitosen der Zellkerne zu trennen. Letztere kommen natürlich in reichlicher Menge vor, scheinen aber häufiger in anderen Formen aufzutreten. Andererseits lassen sich an vielen mehr oder weniger großen rosettenartigen Anordnungen mit runden oder keulenförmigen Chromatinkörpern diese ganz klar als solche an der bekannten Chromatinzeichnung der Ringe erkennen. Hier ist es an sich nicht schwer zu verfolgen, drängt sich vielmehr ganz von selber bei der Betrachtung solcher Präparate auf, daß und wie einzelne Chromatinkörper zu diesen interessanten Gruppierungen gelangen, da man die einzelnen Entwicklungsstadien innerhalb, wie zwischen den Zellen genau übersehen kann. Ich habe diese Dinge bei Magen-, Darm-, Rektum-, Uterus-, Nierenkrebs und auch bei Sarkomen gesehen. Viel schwieriger lagen die Verhältnisse, wo sich neben den zierlichsten feinsten Mitosen mit typischen oder atypischen Sternbildungen ganz analoge gröbere Formen fanden, in denen ich ganz zweifellos Chromatinkörper feststellen konnte. Ich sah diese unter anderem sehr reichlich in verschiedenen frisch extirpierten Uterus-, Darm- und Rektumkrebsen. Ich konnte sie aber besonders schön auch in dem zwischen den epithelialen Teilen liegenden Bindegewebe eines Magenkrebses beobachten und hier über allen Zweifel dartun, daß sowohl mehrere der äußerst zierlichen mitosenähnlichen Gruppierungen, mit feinen

länglich keulenförmigen Anlagen von Chromatinkörpern, wie die aus typischen und atypischen Mitosensternen mit größeren keulenförmigen Chromatinkörpern in den typisch gefärbten roten Hüllen der „jungen Organismen“ lagen. Diese gehörten also fraglos zu den Parasiten. Uebrigens erinnern an diese formvollendeten Mitosen doch auch manche mehr weniger entsprechende Gruppierungen von Chromatinkörpern in meinen Tierpräparaten (man vergl. auch Abb. III m). Hält man diese verschiedenen Beobachtungen mit den auch von den Kulturen beschriebenen Anordnungen in Rosettenform zusammen, so muß man es immerhin für wahrscheinlich annehmen, daß auch bei den Parasiten im Krebse und Sarkom des Menschen ein Stadium der Mitosenbildung zu statuieren ist (s. unten).

Feine Gänge, gefüllt mit körnig zerfallenen Zellen und einzelnen Chromatinkörpern, konnte ich häufig, zumal zwischen den Epithelialzellen von Hautkrebsen entdecken, aber auch größere Gänge mit körnig zerfallenen, sowie noch erhaltenen abgestorbenen Zellen, mit Chromatinkörpern frei oder innerhalb „junger Organismen“, ferner vielfach mit kleinen und größeren runden Körperchen, welche färberisch nicht differenzierten, gleichmäßig dunkel oder nur als Andeutungen von Hülle und Inhalt in zwei Nüancen gefärbten Sporen und „jungen Organismen“ entsprechen. Außerdem sind oft noch leere Hüllen in der Masse. Diese Gänge sind denen an den Tierpräparaten durchaus gleich. Noch öfter begegnet man aber bei manchen Krebsen des Menschen inmitten im meist noch erhaltenen Gewebe mehr oder weniger ausgedehnten breiten Heerstraßen von massenhaften Chromatinkörpern. Die letzteren sind hier wie überhaupt nicht nur einzeln und in „jungen Organismen“, sondern mit solchen in kleinen gut erhaltenen „Brutkapseln“, sowie zuweilen auch noch in teilweise schon entleerten „großen Kapseln“ von mir angetroffen. Solche, wenn ich so sagen darf, konzentrierte Entwicklungskolonien von Chromatinkörper tragende Sporen sieht man unter anderem auch sehr schön in manchen Epithelperlen, in denen ich zuerst schon früher das Vorkommen von Parasiten und leeren Hüllen solcher nachgewiesen habe (s. mein Buch 1901).

Die „großen Kapseln“ sind bei Hämatoxylin-Eosinfärbung ebenso wie die Hüllen der „jungen Organismen“, wenn überhaupt, meist hellrot gefärbt. Die hyaline Substanz ist regelmäßig lebhaft rot gefärbt. Man sieht sie gewöhnlich in meist mehrfächerigen kugligen oder klumpigen Gebilden, glänzend, gleichmäßig hochrot. Wiederholt habe ich besonders an gut gefärbten Schnitten von Magencarcinom, wo sie in einem Falle sehr reichlich vorhanden waren, diesen roten hyalinen Massen dicht anhaftend resp. mit ihnen organisch verbunden mehr oder weniger noch gut erkennbar, meist atrophische rudimentäre oder geschrumpfte Chromatinkörper festgestellt. Das fand ich stets. Es bestätigt also auch dieser Befund meine frühere wiederholt nach meinen Kulturen und histologischen Untersuchungen betonte Behauptung der Zusammengehörigkeit dieser hyalinen Massen mit den Parasiten. Ich habe die hyaline Degeneration der Parasiten als eine Degenerations- resp. Absterbeerscheinung charakterisiert. Auch dieses wird durch den Zustand, in welchem man hier die atrophischen blassen oder auch ganz zusammengeschrumpften Chromatinkörper findet, von neuem bekräftigt.

Mehr weniger vollständige Schrumpfs- und Absterbungsformen der Chromatinkörper resp. der Parasiten mit denselben, die

ich oben bei meinen Tierpräparaten charakterisierte, trifft man gleichfalls vielfach an. Besonders reichlich sah ich sie in der Niere an den außerhalb des fertigen Krebses liegenden, anscheinend gesunden, aber doch schon in charakteristischer Weise veränderten Nierenteilen, die ich oben erwähnte. Sie liegen in denselben Beziehungen zu den Epithelien, wie sonst die gut erhaltenen Parasiten. In einem anderen Nierenkrebs sind außer diesen noch massenhaft verkümmerte rosettenförmige Chromatinkörper. Das ist mir insofern interessant, weil ich schon früher bei meinen histologischen Untersuchungen verschiedener Nierenkrebs des Menschen festgestellt habe, daß in denselben auffallend viele Parasiten abgestorben oder mit Degenerationserscheinungen (s. meine obigen beiden größeren Mitteilungen) vorkommen, was mich schon damals die Vermutung aussprechen ließ, daß im lebenden Nierengewebe auf die Parasiten deletär einwirkende Substanzen vorhanden sind oder bei Krebs von den Zellen des Nierengewebes entwickelt werden. Leider sind sie nicht ausreichend, um alle zu vernichten, denn es finden sich an zahlreichen anderen Stellen der Niere vortrefflich gut ausgebildete Chromatinkörper, vielfach einzeln, teils runde, teils keulenförmige mit den intensiv gefärbten Verdickungen, wie sie oben beschrieben wurden. Die erwähnten geschrumpften und abgestorbenen Formen sind aber auch bei vielen anderen Krebsen zwischen den Epithelien des Krebsgewebes anzutreffen, sehr reichlich z. B. bei Brustkrebs, bei Drüsenrezidiven, bei Uterus-, Magen-, Darmkrebs, auch in manchen frisch entstandenen Sarkomen.

Die weniger scharfen, ungenügend differenzierten, konglomerierten Formen der Chromatinkörper, welche ich oben wesentlich auf die Folgen mangelhafter Färbung zurückführte, finden sich natürlich oft genug auch in den Krebs- und Sarkompräparaten vom Menschen. Augenscheinlich hat die Frische der Präparate darauf einen wesentlichen Einfluß. Im übrigen sind die Erscheinungen die gleichen, welche ich oben bei den Tierpräparaten geschildert habe, so daß darauf verwiesen werden kann.

Beifolgend gebe ich Abbildungen aus Carcinom- und Sarkompräparaten von Menschen (s. Tafel Fig. IV).

Die Größe der Chromatinkörper ist beim Menschen nach verschiedenen Messungen ungefähr dieselbe, wie oben angegeben ($1-1\frac{1}{2}-2\mu$). Doch kommen hier viel häufiger die größeren und Teilungsformen vor, welche letzteren zuweilen auch noch ein wenig über 2μ hinausgehen können. Man trifft frische Präparate, gute Färbung und sorgfältige Behandlung vorausgesetzt, die Chromatinkörper vielfach in gewissermaßen schöneren Exemplaren als bei den Tierpräparaten vor. Doch machte hin und wieder eine Geschwulst eine Ausnahme davon, ohne daß man immer die Gründe angeben kann, wenn man nicht annehmen will, daß eine zufällig abweichende Behandlung der Geschwulst nach ihrer Entfernung vom lebenden Körper oder vielleicht besondere, noch nicht genügend gekannte Verhältnisse der betreffenden Gewebe die weniger klare Darstellung der Chromatinkörper verschuldeten. — Wie ich schon hervorhob, lassen manche Färbungen die Chromatinkörper nur undeutlich, wie verschmiert erscheinen. Mit anderen — ich selber fand mehrere — läßt sich zwar das Protoplasma der Parasiten, vielleicht auch unter etwas anderer Nüancierung die Hülle färben, so daß man sie gut vom Gewebe unterscheiden kann, aber die Chromatinkörper sind überhaupt nicht zu sehen. — Beiläufig bemerkt hindert die Paraffineinbettung resp. die dabei unvermeidliche Erhitzung der Präparate nicht das Erscheinen der

Chromatinkörper; indessen scheinen mir doch die Formen in manchen so behandelten Schnitten nicht in der Weise erhalten, wie ich es als normal ansehen muß. In den in Celloidin eingebetteten Präparaten eines vor der Exstirpation mit dem Glüheisen behandelten Portiocarcinoms erscheinen die Chromatinkörper im Bereiche der Hitzeeinwirkung stark gequollen, die Zeichnung der Chromatinsubstanz nur angedeutet, fast verwischt, während die Chromatinkörper in den unmittelbar benachbarten, von der Hitze augenscheinlich nicht erreichten Teilen in sehr kräftiger schöner Farbe differenziert und von normaler Beschaffenheit sind¹⁾.

Die Zahl der Chromatinkörper ist beim Menschen im allgemeinen außerordentlich groß, viel höher, als es wohl selbst die Anhänger der parasitären Krebsentstehung sich vorstellen. Jedoch sah ich sie bisher in keinem Krebs so ungeheuer reichlich wie beim Magenkrebs. An gut gelungenen Präparaten beherrschen sie hier überall das mikroskopische Bild. Indessen besitze ich auch einige Sarkome, wo sie in ausgiebigster Weise, einzeln oder innerhalb junger Organismen zwischen dem Sarkomgewebe verstreut sind. Außerdem sah ich andere, in welchen fast in jeder Zelle, oft auch im Zellkern ein oder mehrere Chromatinkörper sitzen. Jedenfalls unterstützt die Massenhaftigkeit der Chromatinkörper nicht nur meinen Nachweis derselben als charakteristischer Merkmale der Parasiten, sondern erfüllt auch in vollkommenster Weise die erste, an die Annahme eines solchen Krankheitserregers geknüpfte Voraussetzung.

Die Bedeutung der Chromatinkörper für den Geschwulstprozeß, ihre Beziehungen zu den Veränderungen der Zellen und des Gewebes und damit die außerordentlich wichtige Einwirkungsweise der Parasiten läßt sich, wie schon aus dem Mitgeteilten ersichtlich ist, vielfach unmittelbar aus der histologischen Verteilung der Chromatinkörper entnehmen. Auch der außerordentliche Anteil, den die Parasiten am histologischen Bau der Geschwülste haben, wird nach dem Gesagten einleuchten. Indessen ergeben sich nach dieser Richtung für die einzelnen Krebse und Sarkome, schon wegen der verschiedenen Beschaffenheit der betreffenden Gewebe und Organe, noch so viele interessante Besonderheiten, daß nur ein in das innerste Detail der Geschwulsthistologie eindringendes Studium denselben gerecht werden kann; was weit über den Zweck dieser Mitteilung hinausgehen würde.

Nachdem ich die Zugehörigkeit der Chromatinkörper zu den von mir früher durch Kultur aus Krebs- und Sarkomgewebe gewonnenen Parasiten an den Kulturpräparaten, sowie aus den mit diesen Kulturen erzeugten Tierpräparaten auf wohl unwiderlegliche Weise dargetan und auf ihre allseitige Anwesenheit in Krebs- und Sarkomgeschwülsten beim Menschen, sowie auf ihre Bedeutung für die Entstehung und den Aufbau dieser Geschwülste hingewiesen habe, darf ich auch aussprechen, daß es mir zweifellos ist, daß ein großer Teil der Erscheinungen, welche bisher in den Krebspräparaten, so besonders in Hautcarcinomen, in den Epithelperlen etc., als „Leukocytenkerne“ angesehen werden, und auch in den neuesten pathologisch-anatomischen Darstellungen dieser Geschwülste noch heute angegeben werden, tatsächlich nicht auf die bekannten meist angeblich dreiteiligen Leukocyten-

1) Auch nach Einwirkung von Röntgenbestrahlungen bei Carcinom sind sie von mir eigentümlich verändert gefunden worden. S. meine Mitteilung darüber im Centralbl. f. Chirurgie. 1904. No. 42.

kerne, sondern auf die von mir gefundenen Chromatinkörper der Parasiten zu beziehen ist. Man hat sich das „Eindringen der Leukocyten in und zwischen das Krebsgewebe“ zum Teil so erklärt, daß diese den Epithelialzellen zur Nahrung dienten, daß sie von ihnen oder unter ihrer Einwirkung zerstört würden, und bekanntlich manche histologische Erscheinung des Krebsgewebes darauf zurückgeführt, worauf ich hier nicht eingehen will. Ich bemerke aber hier ausdrücklich, daß auch ich die Möglichkeit der Aufnahme von Leukocyten seitens des Krebsgewebes und speziell seitens der Epithelien derselben keineswegs bezweifle, daß ich im Gegenteil mit vielen anderen vermute, daß die bekannten Zelleinschlüsse tatsächlich wesentlich hierauf zu beziehen sind, eine Annahme, welcher überdies die neuerdings von den verschiedensten Seiten wiederholt festgestellten färberischen Eigenschaften der Zelleinschlüsse ganz und gar nicht entgegenstehen. Nach der neuesten Mitteilung nehmen auch die „Zentralkörperchen“ der berühmten „Vogelaugenkörperchen“ meist Protoplasmafärbung (!) an und ist eine karyochromatophile Kernsubstanz in ihnen nicht nachweisbar (!) Ihre färberischen Eigenschaften sind also absolut andere als die der einkernigen Parasiten, geschweige denn, als die der Chromatinkörper.

Was die Möglichkeit einer Verwechslung der Chromatinkörper mit Leukocytenkernen anlangt, so sollte trotz einer äußeren Ähnlichkeit der Leukocytenkerne, übrigens nur mit manchen Chromatinkörpern, zumal in ungenügend gefärbten Präparaten, doch schon die oft geradezu ungeheure Menge dieser Körperchen stutzig machen. Denn dieselbe ist oft so beträchtlich, daß man, wenn sie Leukocyten wären, notwendigerweise eine entzündliche, wenn nicht eiterige (!) Infiltration der betreffenden Krebse und Sarkome annehmen müßte. Der von mir gelieferte Nachweis von einzelnen Chromatinkörpern ebenso wie von rosettenförmigen Gruppierungen in selbst viele Monate alten Kulturen, wo längst jede Spur eines Kerngebildes des Geschwulstgewebes mit diesem verschwunden ist, widerlegt von vornherein die Annahme, daß hier Leukocytenkerne vorgefunden seien. Die weitere Tatsache, daß ich in manchen Krebsen und Sarkomen, innerhalb einzelner Zellen, ja selbst innerhalb mancher Kerne einzelne Chromatinkörper, in anderen mehrfache Gruppierungen solcher feststellte, während ich sie außerhalb, zwischen den Zellen, in den geschilderten typischen Anordnungen in Hüllen „junger Organismen“ fand, daß ich ferner des öfters das Austreten eines einzelnen Chromatinkörpers aus jener Gruppe beobachten konnte, schließt, abgesehen von vielen anderen Gründen, eine Verwechslung mit Leukocytenkernen eo ipso aus. Die Leukocytenkerne erscheinen überdies meist in ungleicher Form, sind plumper und sehen wesentlich anders aus als normale Chromatinkörper, sobald man sie bei entsprechend starker Vergrößerung, selbstverständlich nach entsprechend gleicher guter Färbung, vergleicht, was zuweilen schön hervortritt, wenn wie an manchen meiner Tierpräparate Chromatinkörper mit Leukocyten zusammenliegen. Das Vorkommen zahlreicher einzelner Formen scharf charakterisierter Chromatinkörper, ebenso wie das Auftreten zu 6—8 und mehreren in den verschiedenen oben geschilderten Anordnungen und mitosenartigen Gruppierungen, vor allen Dingen aber die ausführlich geschilderten, bei guter Färbung meist außerordentlich scharf hervortretenden Merkmale meiner Chromatinkörper lassen sie natürlich bei entsprechenden Vergrößerungen (durchschnittlich bei 1000-facher) bester Mikroskope und bei guter Beleuchtung unschwer

als solche erkennen. Noch sicherer wird die Entscheidung, wenn man Schnitte desselben Präparates zunächst mit den von mir angegebenen wässerigen Salzlösungen ungefärbt oder mit schwachen Färbungen oder mit bestimmten Protoplasmafärbungen untersucht, bei denen die Parasiten mit ihren Formen in Eigenfarbe wenig oder im ganzen gefärbt und noch mit guterhaltener Struktur der Hülle und des Protoplasmas zu sehn sind, und damit dann andere, intensiv z. B. mit Hämatoxylin-Eosin behandelte Schnitte vergleicht.

Ich glaube ferner, daß ein Teil der eigentümlichen Mitosenbildungen, welche man seit längerer Zeit schon in Krebspräparaten beobachtete und denen von manchen Seiten, so auch neuerdings wieder, zumal von namhaften englischen Krebsforschern (vergl. unter anderem mein Referat im Centralbl. f. Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten, Bd. XXXV. No. 5/6. p. 184--186), eine besondere ätiologische Bedeutung im Sinne der rein cellulären Entstehungsweise des Krebses beigelegt worden ist, zurückzuführen ist auf die charakteristischen Anhäufungen und Gruppierungen der Chromatinkörper der Parasiten in den Zellen. Es geben besonders die rosettenartigen Gruppierungen flaschen-, birn- oder keulenförmiger Chromatinkörper durchaus die Vorstellung und das Bild von Mitosen und sind gewiß stets als solche aufgefaßt worden. Nach meinen Untersuchungen stellen sie tatsächlich nur eine Entwicklungsphase der Parasiten dar, welche sich hier entweder in der Hülle eines „jungen Organismus“ oder innerhalb einer Zelle abspielt, ein Prozeß, den ich genau ebenso in den Kulturen der Parasiten beobachten konnte. Ob einzelne dieser Formen als Mitosen aufzufassen sind und ob noch andere der beobachteten zweifellosen Mitosen den Parasiten zuzuschreiben sind, werde ich gleich noch mit einigen Worten berühren.

Ein besonderes Interesse beanspruchen ferner die eigentümlichen Erscheinungen in den Zellen und Kernen des Krebsgewebes, welche ich nicht selten bei unvollkommener Trennung der Chromatinkörper bemerkte und schon an den Tierpräparaten eingehend geschildert habe. Es ist mir sehr wahrscheinlich, daß auch diese oft sehr eigentümlich aussehenden Gebilde auf manchen den Eindruck einer unvollkommenen atypischen Mitose oder eines unregelmäßigen Kernes der Zellen gemacht haben. Wenn ich unter anderem nach meinen jetzigen Untersuchungen über die Chromatinkörper die Abbildungen von Sarkomzellen mit „lappig verzweigtem“ und „korbartig gestaltetem“ Kern betrachte, welche E. Ziegler in seinem vortrefflichen bekannten „Lehrbuch der allgemeinen und speziellen pathologischen Anatomie“ (Jena, Gust. Fischer) nach Präparaten von Nauwerk und Ströbe aufnehmen ließ, oder die Abbildungen, welche die von J. Arnold beschriebene indirekte Fragmentierung der Kerne von Carcinomzellen zeigen, so werde ich unmittelbar an manche Bilder unvollkommen getrennter und mehr oder weniger diffus gefärbter Chromatinkörper erinnert.

Abgesehen von diesem unerläßlichen Hinweise auf die irrtümlichen Deutungen, welche höchst wahrscheinlich manche auf die Parasiten und speziell auf die Chromatinkörper zurückzuführenden Bildungen erfahren haben, bin ich selbstverständlich nicht der Meinung, daß es überhaupt keine oder keine anderen Mitosen im Krebs- oder Sarkomgewebe gäbe. Ich bestätige dies ausdrücklich, kann es um so mehr, als ich selber viele Präparate mit Mitosen in den Geschwulstzellen besitze.

Es scheint mir aber noch deshalb von Wichtigkeit, das Verhalten der Parasiten, das Erscheinen der Chromatinkörper in rosetten- und mitosenähnlichen Gruppierungen hervorzuheben, um zugleich zu betonen, daß besondere Mitosenfunde an sich im Krebsgewebe keineswegs zu solchen weitgehenden Schlußfolgerungen berechtigen, wie sie bekanntlich von andern Seiten daraus gezogen wurden, und daß sie am wenigsten die Auffassung einer antiparasitären Entstehungsweise von Krebs und Sarkom zu stützen geeignet sind. Eher dürfte in der Folge der entgegengesetzte Schluß Anerkennung finden.

Meine Forschungsergebnisse, welche ich hier nur skizzieren konnte, fordern entschieden gründlichste Revision der bisherigen histologischen und ätiologischen Auffassungen vom Krebs und Sarkom des Menschen. Mit den gegebenen Grundlagen führen sie zur Lösung des Rätsels.

Suchen wir uns zum Schlusse noch kurz, soweit es die bisherigen Ergebnisse meiner Untersuchungen zulassen, den Zusammenhang der einzelnen Entwicklungsformen der Parasiten klar zu machen. Wir nehmen als Ausgangspunkt einen „jungen Organismus“ mit einem Kern innerhalb eines feingranulierten, aber sonst noch nicht differenzierten Protoplasmas, dieses umgeben von einer doppelt konturierten mehrfach perforierten Hülle, welche bei entsprechender Einstellung einen radiär gestreiften Rand zeigt (vergl. Fig. Ia). An diesen Formen sind von mir zwei- bis vierfache Kernteilungen auch mit Teilung des ganzen Individuums (in Kulturen und Tierpräparaten) beobachtet worden. Daneben fand ich als häufige Form des „jungen Organismus“ einen gleichen Bau der Hülle, im Innern aber das Protoplasma in kleine „Körner“ zerfallen, von welchen, wie meine weiteren hier mitgeteilten Untersuchungen ergaben, jedes bei entsprechender Färbung den beschriebenen Chromatinkörper zeigt (Fig. Ib und IIb). Hiernach muß man diesen zweiten „jungen Organismus“ als eine wesentlich weitere Entwicklung als den vorher erwähnten kernhaltigen ansehen. Was aus dem Kern geworden ist, ob er und wie er auch zu den Chromatinkörpern mit verwendet worden ist, ist bislang noch nicht festgestellt. Ich kann nur vermuten, daß dem Zerfall in die Chromatinkörper ein Vorstadium vorausgeht, in welchem der Kern mitotisch zerfiel und dann mit entsprechenden Partien des Protoplasmas zu den Chromatinkörpern wurde. Die Lücke, welche hier in meinen Kulturen besteht, läßt sich in vollkommener Weise auch durch die vielfältigen Beobachtungen von zweifellos (siehe oben) auf die Parasiten zu beziehenden mitosenähnlichen und echten Mitosenbefunden, welche ich an meinen Tierpräparaten, wie an Krebs- und Sarkompräparaten vom Menschen machte, gut ergänzen. Es fehlt hier nicht das sich an die ersten Veränderungen des Kerns anknüpfende Stadium. Ich vermißte auch in den Tierpräparaten nicht bestimmte Vorbereitungsformen an den Kernen bei den gerade hier schon früher wiederholt gefundenen kernhaltigen Parasiten. Typische Mitosen kommen an den Parasiten in den Tierpräparaten seltener vor, sehr häufig dagegen die Büschel- und Rosettenformen, und zwar von den zierlichsten Formen mit fast fadenförmigen Einzelelementen bis zu den mit charakteristisch gefärbten, deutlich ausgebildeten keulenförmigen Chromatinkörpern (vergl. auch Fig. III). Es ist möglich, daß jene gewissermaßen einen Ersatz des mitotischen Prozesses darstellen, der in voller Ausbildung mehr bei den Parasiten im menschlichen Krebs- und Sarkomgewebe zur Erscheinung kommt, in welchem die Parasiten sich jedenfalls in besseren, ihnen mehr zusagenden Ernährungsbedingungen befinden. Uebrigens findet sich die

Büschel- und Rosettenform der Chromatinkörper auch im Krebs beim Menschen neben oft sehr zahlreichen Mitosensternen. Ob letztere jenen Rosettenformen vorausgeht, weiß ich nicht, halte es aber an sich nicht für unmöglich.

Daß aber die rosettenartigen Anordnungen selbst von keulenförmigen Chromatinkörpern, welche ich nicht nur in Kulturen, sondern auch in Tierpräparaten und in Krebs- und Sarkompräparaten des Menschen als innerhalb der Hüllen „junger Organismen“ beobachtet beschrieben habe, nicht ohne weiteres als Mitosen aufzufassen sind, scheint mir nicht nur daraus hervorzugehen, daß mir bei gut gelungenen Färbungen oft auch schon an noch sehr kleinen die Rosette zusammensetzenden „Keulen“ Chromatinkörper deutlich in der beschriebenen charakteristischen Zeichnung wahrnehmbar waren, sondern weil ich wiederholt an meinen Tierpräparaten, aber auch an den verschiedensten Krebspräparaten einzelne der keulenförmigen Körperchen von der Rosette abgesondert und auf dem Wege in die Nachbarschaft vorgedrungen sah. Eine derartige Selbständigkeit und relative Unabhängigkeit der einzelnen Elemente dürfte sich wohl kaum mit dem Wesen einer noch bestehenden Mitose vereinigen lassen (vergl. auch Fig. III und IV).

Einzelne besonders der keulenförmigen Chromatinkörper sah ich öfter auch entfernt von den eben genannten Gruppen da und dort zwischen und in den Zellen des Krebs- und Sarkomgewebes.

Es können also diese keulenförmigen, ebenso aber auch die runden Chromatinkörper resp. die Sporen aus dem jungen Organismus in die Gewebe austreten. Dort werden sie sich augenscheinlich teilen können. Wahrscheinlich können sie dadurch auch im Gewebe allmählich zu jungen Organismen anwachsen. Das läßt sich deshalb vermuten, weil ich ja schon früher bei meinen Kulturen „Brutkapseln“ kennen lehrte, also größere Kapseln, welche im Innern verschieden große und kleine junge Organismen bergen, deren jeder mehrere Chromatinkörper enthält, während ursprünglich die „Brutkapsel“ aus einer „Körnchenkapsel“ hervorgegangen ist, d. i. nach meiner Darstellung, aus einer nur Chromatinkörper enthaltenden Kapsel (s. Fig. I, II, III). Auch der Inhalt der „Brutkapsel“ wird nach außen resp. in das Gewebe entleert, soweit der Raum es gestattet. Die austretenden „jungen Organismen“ können im Gewebe ihrerseits wieder die weitere Entwicklung erfahren, oder sie lassen gleichfalls ihren Inhalt austreten, die Chromatinkörper resp. Sporen. Der Austritt erfolgt augenscheinlich nicht bloß durch einen Riß der Hülle, sondern oft auch durch die sich erweiternden Oeffnungen der Hülle, welche, wie ich direkt an lebenden Kulturen beobachtete, in hohem Grade elastisch ist. Auf die letztere Art des Austretens, glaube ich, kann man zum Teil wenigstens die oft zu beobachtende Doppelkugel (zweier durch einen dünnen Teil verbundener ungleich großer Kugeln) zurückführen. Im übrigen muß man sich die kleinsten parasitären Gebilde, in welchen ich bei den erwähnten Färbungen die Chromatinkörper nachwies, lebend als kontraktile und beweglich vorstellen, was sie befähigt, sich zwischen den Geweben hindurch zu drängen, dem wechselnden Druck der verschiedenen Zellen sich anzupassen und in die Zellen, selbst in den Kern einzudringen (vergl. Fig. III und IV). Nach den eben mitgeteilten Untersuchungen können sie hierin nicht nur wachsen, sondern sogar einen Teil ihres weiteren Entwicklungskreises durchmachen. So ist wenigstens nach meiner Auffassung nicht nur das Vorkommen mehrfacher und besonders das rosettenförmiger Gruppie-

rungen von Chromatinkörpern in den Zellen zu verstehen, sondern auch weiter die Entstehung selbst von „Brutkapseln“, d. h. von großen Kapseln mit jungen Organismen, welche ihrerseits wieder Chromatinkörper enthalten, in einzelnen Zellen, wie man es unter anderem nach der Anlage der Epithelperlen annehmen, aber auch an manchen Stellen von Schleimhautkrebsen sehen kann.

Ob und wie aber aus den einfachen die Chromatinkörper tragenden kleinsten Gebilden wieder kernhaltige „junge Organismen“ entstehen, ist nicht aufgeklärt. Die Zahl der „jungen Organismen“, in welchen ein Kern gesehen oder deutlich gemacht werden kann, ist anscheinend sowohl in Kulturen, wie im Gewebe oft kleiner, als die der „jungen Organismen“ mit schon mehr oder weniger weit entwickelten Chromatinkörpern.

Jedenfalls haben wir in der Bildung der Chromatinkörper die für die Krebs- und Sarkomentwicklung wichtigste Entwicklungsphase der Krebsparasiten des Menschen. Ich betone dies, weil wir damit nun erst die Möglichkeit haben, zu entscheiden, ob bei den spontanen Tierkrebsen und -sarkomen die gleichen Parasiten tätig sind, ob wirklich Menschen- und Tierkrebs auf gleichen Ursachen beruht. In dieser Beziehung herrscht allerorten eine Meinung, welche meines Erachtens zurzeit ganz unberechtigt und wahrscheinlich irrig ist, nämlich die, daß Tier- und Menschenkrebs identisch seien, daß das, was man beim Studium des Tierkrebses gewonnen habe, unmittelbar für den menschlichen Krebs verwertet werden könne. Man vergißt, daß trotz vielleicht ähnlicher oder selbst gleicher anatomischer Befunde nicht nur der klinische Verlauf, sondern auch die experimentellen Ergebnisse oft so außerordentlich verschieden sind, daß schon diese Tatsachen gleiche ätiologische Momente unwahrscheinlich machen. Nun, wo ein sicheres Merkmal der Krebs- und Sarkomparasiten des Menschen in den typischen Chromatinkörpern gegeben ist, wird es notwendig sein, diese in jedem Falle auch bei den Tieren festzustellen, oder, wenn das nicht möglich, zu bestimmen, welche Abweichungen, oder ob andere, oder ob überhaupt keine parasitären Ursachen vorliegen. Ohne die Erledigung dieser wichtigen Vorfragen ist man nicht berechtigt, die Geschwülste, welche man bei Tieren als Krebs oder Sarkom auffaßt, mit denen des Menschen nach Wesen, Entstehungsursachen u. a. m. gleichwertig oder identisch zu erachten.

Die hier zum ersten Male nachgewiesene Tatsache, daß überall im Krebs- und Sarkom-Gewebe des Menschen kleinste runde blasen- oder scheibenartige und keulenförmige Gebilde mit typischer, höchst eigenartiger Anordnung der Chromatinsubstanz verbreitet sind und zwar in direktester Verbindung und als wesentliche Bestandteile der früher von mir als Parasiten beschriebenen Körper, beweist nicht nur, daß dieselben tatsächlich Parasiten sind, sondern auch, daß diese Parasiten zu derjenigen Gruppe von Protozoen gehören, bei welchen typische Chromatinverteilung in den kleinsten einfach gebauten Entwicklungsformen ein wesentliches Kriterium ist. Die tausendfältigen innigen, ich darf wohl sagen, organischen Beziehungen der Chromatinkörper und der übrigen Entwicklungsformen der Parasiten zu den Zellen, Kernen, Geweben in meinen Tierpräparaten, ebenso wie beim Krebs und Sarkom des Menschen, nicht bloß am Orte der ersten Erkrankung und der primären Geschwulstentstehung, sondern auch in den Drüsen und in den Metastasen anderer Organe, läßt keinen anderen

Schluß zu als den, daß wir in diesen Parasiten die erste und wichtigste Ursache der Krebs- und Sarkom-Entwicklung beim Menschen gefunden haben.

Tafelerklärung.

Fig. I. Chromatinkörper, etwas schematisiert, in größerem Maßstabe. *a* aus Kulturen, *b* aus mit Kulturen infizierten Tierpräparaten.

Fig. II. Chromatinkörper in verschiedenen Entwicklungsformen der Parasiten aus Kulturen von Carcinomen und Sarkomen. Färbung Hämatoxylin-Eosin, oder Wrights Methylenblau-Eosin-Gemisch, oder Thionin. Vergr. 1000, vereinzelt 1500 Imm. *j*, *O* junge Organismen aus frischer Carcinomkultur; *a* mit mittlerem Kern; *b* mit „Körnchen“; *j* junge Organismen mit Chromatinkörpern; *r* mit solchen in rosettenförmiger Anordnung; *s* Schrumpfsformen der Chromatinkörper in Hüllen junger Organismen; *c* freie einzelne oder gruppenweise zusammenliegende Chromatinkörper; *l* leere Hüllen junger Organismen; *K* geplatzte große Kapsel; *c'* nicht oder nicht genügend differenzierte Chromatinkörper („Körner“, Sporen).

Fig. III. Chromatinkörper in verschiedenen Entwicklungsformen der Parasiten aus mit den Kulturen von Krebsparasiten infizierten Tierpräparaten (Niere). Färbung Hämatoxylin-Eosin. Vergr. 1000 Imm. Bezeichnung wie bei Fig. II; außerdem *m* mitosenähnliche Gruppierungen der Chromatinkörper, resp. der Parasiten, *z* Chromatinkörper in den Zellen resp. Kernen von Epithelien; *u* unvollständig differenzierte Chromatinkörper-Gruppen oder Schrumpfsformen; *s* vollständig geschrumpfte und abgestorbene Chromatinkörper; *Br* „Brutkapsel“ mit „jungen Organismen“, diese wieder mit Chromatinkörpern.

Fig. IV. Chromatinkörper in den Entwicklungsformen der Parasiten aus verschiedenen Krebsen und Sarkomen des Menschen. Färbung meist Hämatoxylin-Eosin. Vergr. 1000 Imm. *M* Magenkrebs; *D* Darmkrebs; *V* Vulvakrebs; *U* Uterus- und Portiokrebs; *Pe* Peniskrebs; *Pa* Parotiskrebs; *R* Rectumkrebs; *B* Brutkrebs (Drüsenrezidiv); *N* Nierenkrebs; *S* Sarkome. Meist Celloidineinbettung, nur *V* Paraffin. Bezeichnung wie bei Fig. II und III. *m* Mitosenartige Anlagen und Gruppierungen der Chromatinkörper; *c*, *i*, *k* Chromatinkörper im Kern; *p*, *i*, *k* Parasit resp. „junger Organismus im Kern“; *hy* hyaline Körper mit atrophischen oder geschrumpften Chromatinkörpern. Unter den größeren einzeln dargestellten Chromatinkörpern sind auch größere Teilungsformen derselben abgebildet, so bei *U*, bei *Pe*, bei *M*.

Nachdruck verboten.

Ueber Grundgesetze der Immunität.

- I. Ueber antitoxische und antiendotoxische Immunität und über die Eigenschaften der Endotoxine.
- II. Ueber die zwischen den Endotoxinen und Cytotoxinen (Zellgiften, Eiweißgiften) bestehenden Beziehungen.
- III. Ueber die für die therapeutische Anwendung bakterizider Sera geltenden Grundsätze.

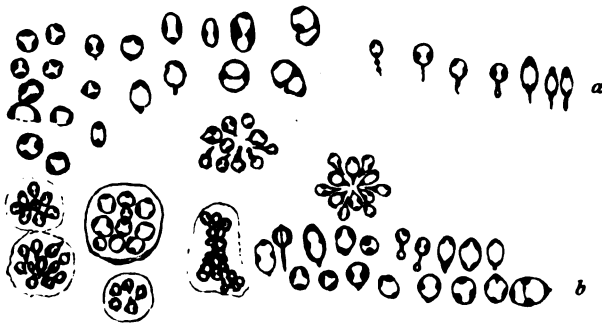
[Aus der k. med. Universitäts-Poliklinik zu Berlin. Direktor: Geheimrat Prof. Dr. H. Senator.]

Von Dr. Alfred Wolff, Assistent der Universitäts-Poliklinik.

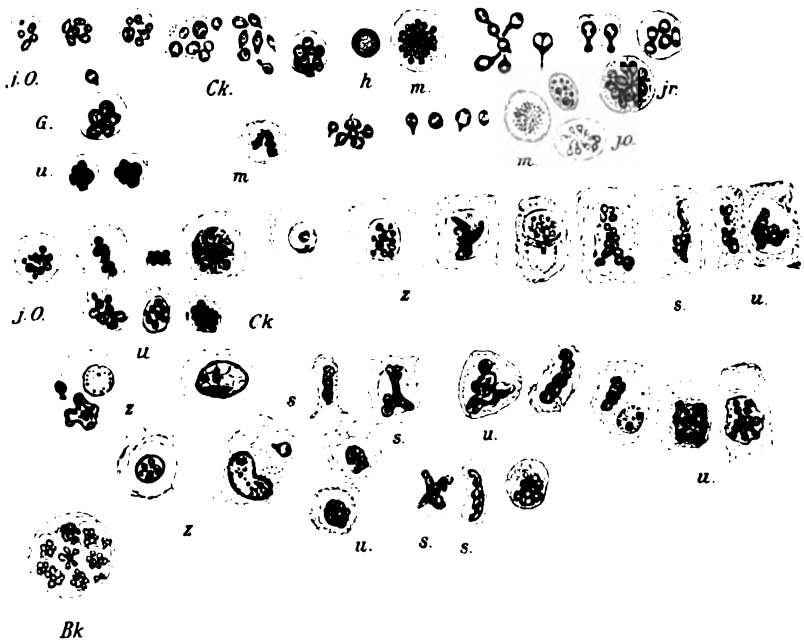
(Fortsetzung.)

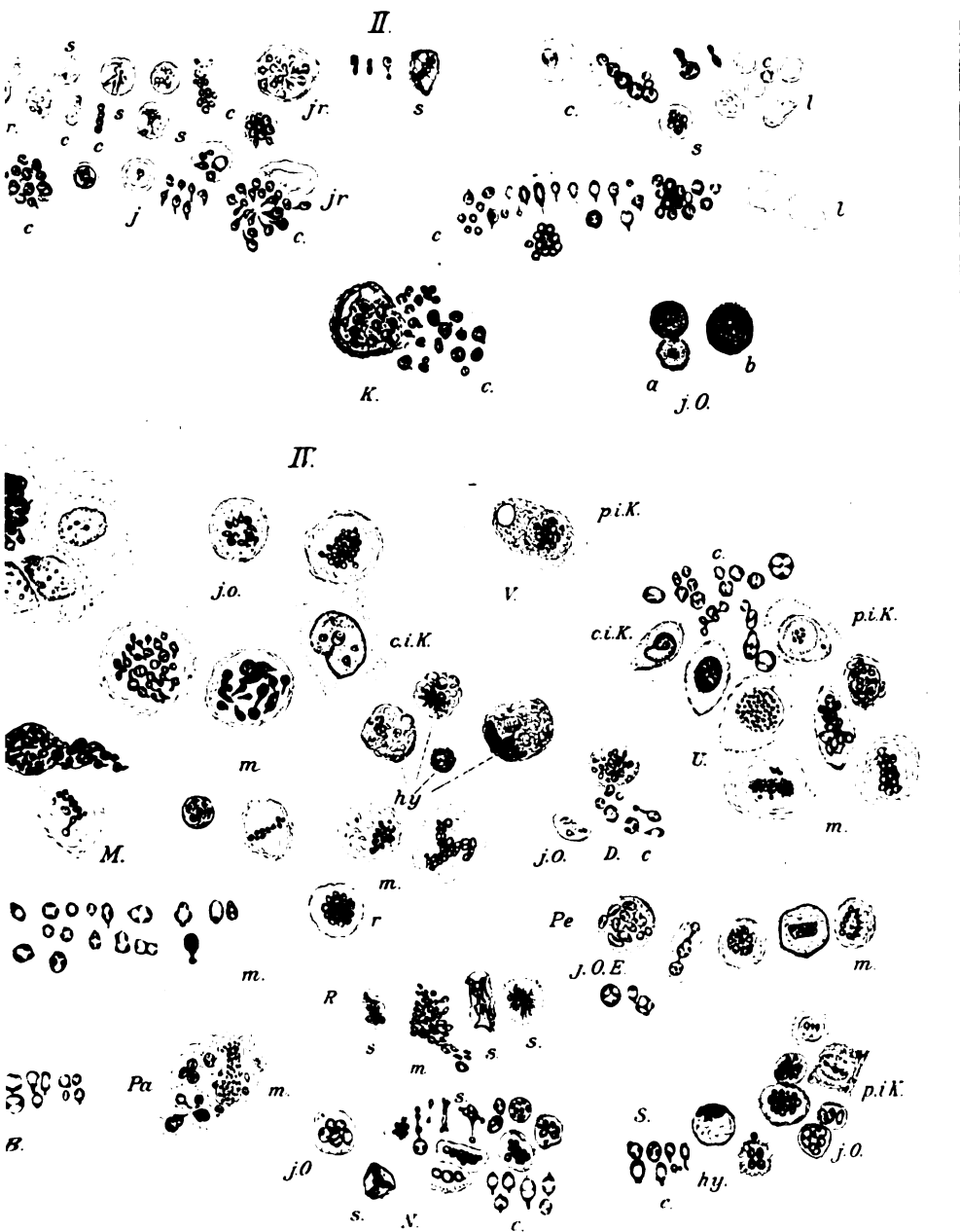
Es kann so durch bakterizide Sera nur dann eine Heilung herbeigeführt werden, wenn die Zahl der eingedrungenen Bakterien noch so gering ist, daß die bei ihrer Auflösung frei werdende Menge von Endotoxinen noch nicht die Dosis letalis minima erreicht, da ja durch die Vernichtung der Bakterien auch gleichzeitig die weitere Bildung von giftiger Bakterienkörpersubstanz (Endotoxin) verhindert wird. Bei dem bakteriziden Zustand der Körpersäfte ist die Entscheidung der Frage:

I.



III.





„handelt es sich um eine Immunität im eigentlichen Sinne?“ etwas kompliziert. Betrachten wir erst die einfacheren Verhältnisse, wie sie die Agglutinine, Präzipitine, Hämolsine etc. bieten.

Präzipitine, Hämolsine, Agglutinine. Wenn man schon den bakteriolytischen Zustand der Körpersäfte vielleicht mit Unrecht als Immunität bezeichnet, so hat es noch viel weniger Berechtigung, wenn man bei den Präzipitinen, Hämolsinen, Agglutininen etc., von Immunität im eigentlichen Sinne redet. Womit ist es denn eigentlich bewiesen, daß diese Körper, Antikörper sind, d. h. doch, wenn man die Worte nicht verdreht, Körper, welche die Wirkung der eingeführten Stoffe aufheben? Das Bestreben, die Grenzen und Aussichten der Serumtherapie zu erkennen, macht es unbedingt notwendig, eine Aenderung dieser irreführenden Nomenclatur vorzunehmen.

Bei der **Agglutination** ist es überhaupt schon zweifelhaft, ob das Auftreten der Agglutinine als ein Vorgang anzusehen ist, der den Körper gegen die Infektion schützen soll, oder ob es sich nicht vielmehr um eine Erscheinung handelt, welche eher als „Bakterienimmunität“ bezeichnet werden könnte. Zwar sind virulente Bakterien viel schwerer (oft bis mehrhundertfach) agglutinierbar, als avirulente, doch beweist diese Tatsache durchaus nicht, daß hier eine Immunitätserscheinung des Tierkörpers vorliegt, außerdem sind agglutinierte Bakterien in ihrer Vitalität nicht geschädigt. Es tritt ja auch ohne Einwirkung irgend welcher Antikörper nach 24 Stunden Spontanagglutination ein.

Umgekehrt erschwert gerade die Agglutination der Bakterien schon ganz räumlich das Herantreten des Immunkörpers und des Komplements, wie es zur Bakteriolyse im Tierkörper notwendig ist, indem diese lytischen Stoffe nicht in das Zentrum des Bakterienhaufens hineingelangen können. Auf diese Weise wird die Bakteriolyse verhindert oder zum mindesten verlangsamt. Französische Autoren bezeichnen den Zustand der Agglutinationsfähigkeit des Serums sehr treffend als *état d'infection et non d'immunité*. Die Auffassung der Agglutination als einer Immunitätserscheinung ist wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß man lange Zeit irrthümlicherweise die agglutinierende Substanz mit der bakteriolytischen für identisch hielt und infolgedessen die für bakteriolytischen Stoffe herrschende Ansicht einfach auch auf die agglutinierenden übertrug. Durch R. Pfeiffer ist jedoch nachgewiesen, daß diese beiden Substanzen nicht identisch sind: die Serummenge, die im Peritoneum des Meerschweinchens zur vollkommenen Bakteriolyse der injizierten, 10-fach tödlichen Cholera- oder Typhusdosis ausreicht, ist z. B. nicht geeignet, eine Agglutination der in der Peritonealhöhle befindlichen Bakterien herbeizuführen.

Ähnlich liegen die Verhältnisse bei den **Hämolsinen**. Die Hämolsine bewirken eine Auflösung der injizierten fremden roten Blutkörperchen. Praktisch wäre eine derartige Immunität eine zwecklose Einrichtung, weil unter natürlichen Verhältnissen niemals ein Tier infolge einer intravenösen oder peritonealen Einführung fremden Blutes gefährdet ist, und es sich allein um eine rein experimentelle Immunität handeln könnte, höchstens wäre von allen Säugetieren der Mensch durch therapeutische Versuche (Transfusion) bedroht, einer Immunität bedürftig. Tatsächlich wird jedoch durch die gebildeten hämolysierenden Stoffe durchaus nicht ein Schutz des Körpers gegen die eingeführten Substanzen bewirkt.

Etwas schwieriger sind die Verhältnisse bei den **Präzipitinen** zu beurteilen. Nach Einführung von körperfremder Eiweißsubstanz tritt eine Reaktion des Körpers in dem Sinne auf, daß das Serum des injizierten Tieres mit dem ursprünglich verwendeten Eiweiß (besonders wenn das präzipitierende Serum im Ueberschuß auf die präzipitable Substanz einwirkt) im Reagenzglas eine starke Präzipitation gibt. Im Tierkörper wird diese Präzipitierung jedoch niemals beobachtet, die Vermutungen Menzers¹⁻³⁾, daß dieser Vorgang doch stattfindet, beruhen auf den von ihm gemachten Beobachtungen von schweren klinischen Erscheinungen nach wiederholter intravenöser Injektion eines Streptokokkenserums und sind, wie wir nachher sehen werden, wohl besser anders im Sinne der bei wiederholten Injektionen zunehmenden Endotoxinempfindlichkeit zu deuten.

Die Präzipitine entstehen als eine Reaktion des Körpers und ihre Bildung ist dem Ueberstehen einer Krankheit ungefähr gleichzusetzen. Sie erfolgt unter Gewichtsverlust unter Temperaturschwankungen und unter nicht seltenem Eingehen der Tiere trotz völlig aseptischen Verfahrens. Diese Präzipitinbildung ist der Grund, warum klinisch bei Darmstörungen eine subkutane Ernährung mit nativen Eiweißstoffen unmöglich ist.

Oppenheimer⁴⁾ hat nun vor kurzem die Ausscheidung von Eiweiß durch die Niere bei mit Eiweißsubstanzen behandelten Tieren verfolgt. Nach subkutaner oder peritonealer Eiweiß- oder Seruminjektion tritt konstant eine Eiweißausscheidung auf. Oppenheimer hat bei seinen rein chemischen Untersuchungen auf Grund von Kjeldahlbestimmungen den ganz im Sinne obiger Auseinandersetzung liegenden Schluß gezogen, daß eine konstante Immunisierung der mit Eiweiß injizierten Tiere in dem Sinne, daß eine konstante Verringerung der Eiweißausscheidung durch die Nieren bei der Immunisierung allmählich auftritt, nicht zu konstatieren ist. Er kommt jedoch, wenn auch mit größter Vorsicht zu dem Schlusse, daß ein Teil des injizierten Eiweißes zur Verwertung gelangt, da nicht die gesamte Menge des injizierten Eiweißes in den Urin nachzuweisen ist.

Die praktischen Konsequenzen, die sich aus diesem Schluß ergeben würden, sind aufs allerschärfste zu bekämpfen. Nach weiter unten anzuführenden Versuchen ist anzunehmen, daß ein Teil der injizierten Substanz durch Absorption oder Bindung in den Organen festgehalten wird, in denen sie, unter den oben kurz skizzierten klinischen Erscheinungen, die Bildung der präzipitierenden etc. Substanzen im Tierkörper auslösen. Bei gleicher Deduktion, wie Oppenheimer sie anwendet, wäre es ja möglich, von injiziertem Ricin, Tetanus oder Diphtherietoxin zu sagen, daß es im Körper verwendet worden wäre, da man die Stoffe im Urin nicht finden und sie auch im kreisenden Blutserum nicht nachweisen kann. Es braucht wohl nicht weiter bemerkt zu werden, daß diese Annahme absurd ist. Es scheint bei der Resorption von körperfremden Eiweißarten die Eiweißausscheidung durch die Niere mehr eine Schutzfunktion als einen Indikator für die erzielte Immunität oder das Maß der Verwertung des injizierten Eiweißes darzustellen. Die Eiweißausscheidung durch die Niere geht sehr schnell wieder vorüber und es folgt keine Nephritis.

1) Das Antistreptokokkenserum und seine Anwendung beim Menschen. (Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 25 u. 26.)

2) Verh. des Kongr. f. inn. Med. 1904.

3) Berl. klin. ther. Wochenschr. 1904. No. 44.

4) Oppenheimer, Ueber das Schicksal der mit Umgehung des Darmkanals eingeführten Eiweißkörper im Tierkörper. (Hofmeisters Beiträge. IV. 1903. p. 263.)

Der Zustand von Tieren, deren Serum Cytolysine, Agglutinine, Präzipitine etc. enthält, kann **nicht** als **Immunität** im ursprünglichen Sinne bezeichnet werden. Ist man sich jedoch klar, daß dieser Zustand der Tiere nicht mit dem Begriff der antitoxischen Immunität identifiziert werden darf, so liegt am Namen selbst nichts und man kann ihn gern in dem erweiterten Sinne auch ferner gebrauchen.

Wir sind jetzt so weit in unseren Ausführungen gekommen, daß wir uns der wichtigen Frage zuwenden können, inwieweit der Gehalt des Serums an Bakteriolytinen als eine Immunität im ursprünglichen Sinne aufzufassen ist.

Es handelt sich im wesentlichen bei dieser Art von Immunität darum, daß durch Serumwirkung Bakterien aufgelöst und infolge dieses Vorganges die in den Bakterien enthaltenen Endotoxine in Freiheit gesetzt werden.

Auf welche Art und Weise die im Bakterienleib enthaltenen Gifte ihre **Endotoxinwirkung** ausüben, ist bisher noch in völliges Dunkel gehüllt und alle bisher bekannten Tatsachen trugen nur dazu bei, die Schwierigkeiten, die sich der Forschung hier entgegenstellen, zu vermehren. Es sind bisher nur zusammenhangslose Einzelheiten bekannt: Virulente Bakterien sind nicht nur durch erhöhte Vermehrungsfähigkeit und Resistenz gegenüber den Schutzkräften des Körpers infektiöser als avirulente, sondern lösen auch in abgetötetem Zustand Tieren injiziert, bei diesen einen höheren Grad von bakteriolytischer Immunität aus, als nicht virulente. Diese Angabe Pfeiffers wird jedoch auch bestritten (Wassermann). Virulente Bakterien vermögen ferner auch eine größere Menge von Immunkörpern aus dem Immunserum zu binden, doch sind die Unterschiede zwischen virulenten und avirulenten Bakterien nicht bedeutend genug, um die kolossalen Differenzen bei Tierinfektionen mit virulenten und avirulenten Kulturen erklären zu können. Wir müssen ferner von der merkwürdigen Tatsache Kenntnis nehmen, daß der unter der Wirkung der Immunkörper aufgelöste Bakterienleib noch die Fähigkeit besitzt, einem anderen Tiere injiziert, bei diesem eine Immunkörperproduktion anzuregen.

Pfeiffers Versuch der theoretischen Deutung der bakteriziden und Endotoxin-„Immunität“. Die einzige bisher versuchte theoretische Deutung dieser Vorgänge rührt von R. Pfeiffer¹⁾ her, und obwohl, wie wir schon oben hinwiesen, die Deutung noch keine völlig befriedigende und lückenlose Erklärung der beobachteten Tatsachen gibt, muß man das Vorhandensein dieser Theorie mit größtem Danke begrüßen, da sie die einzige Möglichkeit gibt, sich überhaupt irgend eine Vorstellung von den sich abspielenden Vorgängen zu machen. Pfeiffer nimmt an, daß der Bakterienleib eine große Zahl von Rezeptoren enthält, von denen einige (oder vielleicht auch nur einer) mit Immunkörpern besetzt sein muß, um die Bakteriolyse (natürlich Vorhandensein von Komplement vorausgesetzt) herbeizuführen. Die übrigen Rezeptoren gelangen bei der Auflösung der Bakterien in Freiheit und kommen dann an Körperzellenrezeptoren, an denen sie verankert werden und nun ihrerseits die Abstoßung dieser Rezeptoren im Sinne der Ehrlichschen Theorie und so die Bildung neuer bakteriolytischer Immunkörper auslösen.

1) Pfeiffer und Friedberger, Ueber das Wesen der Bakterienvirulenz nach Untersuchungen an Choleravibrionen. (Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 25.)

Das Schwierige der hier in Betracht kommenden Verhältnisse liegt nun darin, daß der frei gewordene Bakterienrezeptor durchaus nicht die Bildung von Antikörpern in dem Sinne auslöst, daß die von den Körperzellen in das Serum übergehenden Zellrezeptoren (das sind die Immunkörper) die Wirkung der Bakterienrezeptoren (das sind die Endotoxine) neutralisieren, sondern daß diese in das Serum übergegangenen Zellrezeptoren ihrerseits wieder nur die Fähigkeit besitzen, eine Bakteriolyse herbeizuführen, und daß so gerade durch die Wirkung eines sogenannten „Immunkörpers“ wieder zahllose giftig wirkende Bakterienrezeptoren in Freiheit gesetzt werden. So scheint es theoretisch leicht verständlich, daß den Giften des Bakterienleibes gegenüber ein sogenanntes „immunes“ Tier nicht resistenter ist als ein „nicht immunes“, da die Schnelligkeit des Auflösungs Vorganges und damit die Schnelligkeit der Resorption des in den Bakterien enthaltenen Giftes bei ersterem eine erhöhte ist.

Die vorliegenden Verhältnisse sind so komplizierter Natur, daß keine der bisher vorhandenen Theorien die sich darbietenden Rätsel zu lösen verstanden hat.

Die erste Bedingung zur Lösung eines schwierigen biologischen Problems ist die Sammlung eines größeren Tatsachenmaterials. In der vorliegenden Frage jedoch wird uns durch vorliegende Tatsachen das Verständnis nur noch außerordentlich erschwert. Beim Impfen eines Tieres mit irgend einer Bakterienart nimmt z. B. bei intravenöser und peritonealer Infektion die Resistenz des „Immuntieres“ gegenüber dem nicht immunen nicht zu, während das vorbehandelte (immunisierte) Tier bei subkutaner Einverleibung von Bakterienkulturen unter Umständen ganz enorme Dosen z. B. von Cholera vibrien oder Typhusbacillenendotoxinen verträgt. Wie wir später sehen werden, verhalten sich in dieser Beziehung die einzelnen endotoxischen Substanzen auch noch sehr verschieden.

Die bisher für obige Beobachtung sich bietende Erklärung ist eine sehr gezwungene; sie geht von der Beobachtung aus, daß z. B. die 1000fache Menge des Serums, welche zur Bakteriolyse ausreicht hätte, alle Bakterienrezeptoren so besetzen kann, daß auch der Eintritt von bakteriolytischer Immunität nach Injektion beim Tiere ausbleibt. Hieraus wird gefolgert, daß keine freien Bakterienrezeptoren mehr an Körperzellenrezeptoren gelangen; Pfeiffer nimmt nun an, daß bei dem bei subkutaner Injektion verlängerten Resorptionswege alle Bakterienrezeptoren im vorbehandelten Tier in dieser Weise abgesättigt worden sind. Doch scheint die Analogie mit den weiter unten zu besprechenden Versuchen dafür zu sprechen, daß vom subkutanen Bindegewebe beginnend, die Endotoxine in den verschiedenen Organen, die sie auf ihrem langen Resorptionswege zu passieren haben, festgehalten und so verhindert werden, an Stellen zu kommen, an denen sie ihre letale Wirkung entfalten können.

I. Ueber die Eigenschaften der Endotoxine.

Die Endotoxinlehre war schon von Anfang an auf breiter Grundlage aufgebaut worden, indem R. Pfeiffer und sein Schüler Radziewsky¹⁾ den Beweis geführt hatten, daß nicht nur bei Typhus und

¹⁾ Radziewsky, Untersuchungen zur Theorie der bakteriellen Infektion. (Ztschr. f. Hyg. Bd. XXXVII. 1901. p. 1.)

Cholera, sondern auch bei anderen bakteriellen Erkrankungen, wie Milzbrand, Streptokokken- und Pneumokokkeninfektion eine Auflösung der betreffenden Bakterien eintrete und daß dabei auch die Leibessubstanz der betreffenden Bakterien, i. e. das Endotoxin in Freiheit gesetzt wird.

Die Endotoxine der einzelnen Bakterien, so viel prinzipiell Gemeinsames sie auch haben mögen, zeigen wieder eine überaus große Verschiedenheit, wie wir sie in der organischen Natur überhaupt anzutreffen gewohnt sind. Die Differenzen liegen einerseits in der zur krankmachenden und tödlichen Wirkung erforderlichen Dosis, ferner in der größeren oder geringeren Schwierigkeit, mit der die Gifte aus den Bakterienleibern in Freiheit gesetzt werden.

Morphologie der Bakteriolyse bei den einzelnen Bakterienarten. Den bei der Bakteriolyse stattfindenden morphologischen Vorgang kann man am leichtesten am ungefärbten Präparat bei Cholera-vibrionen und Typhusbacillen beobachten, bei denen die bekannte Granulabildung bei Betrachtung mit der Immersionslinse mit Leichtigkeit auch von weniger Geübten festgestellt werden kann. Der Prozeß der Bakteriolyse schreitet progressiv weiter, bis von einem gewissen Moment an auch die für die Beobachtung der Bakteriolyse so geeigneten Cholera-vibrionen und Typhusbacillen optisch nicht mehr nachzuweisen sind. Sie haben vor diesem Zeitpunkt entweder kurze Zeit ein ballonartiges, aufgetriebenes Aussehen dargeboten oder sich auch ohne dieses Zwischenstadium der Beobachtung entzogen, d. h. sie sind in den optisch nicht mehr wahrnehmbaren gelösten Zustand übergegangen.

Bei weitem komplizierter liegen die Verhältnisse am gefärbten Präparat. Man sieht immer mehr ein, daß die Immersionslinse am ungefärbten Präparat viel mehr Feinheiten der Struktur aufzudecken erlaubt, als am gefärbten möglich ist. Dieselbe Erfahrung kann man beim morphologischen Studium der Bakteriolyse machen. Ich habe schon früher darauf hingewiesen (Berl. klin. Wochenschr. 1903. No. 17—20), wie außerordentlich schwierig die färberische Darstellung der in Auflösung befindlichen Cholera-vibrionen und Typhusbacillen ist, indem diese, die im unveränderten Zustande eine so große Affinität zu den basischen Anilinfarbstoffen besitzen, dem Eindringen auch dieser Farbstoffe mit oder ohne Beizung einen außerordentlich großen Widerstand entgegensetzen. Es gelingt trotz Anwendung der von Radziewsky empfohlenen mehrstündigen Färbung mit verdünntem Karbolfuchsin nicht, mehr als einen kleinen Teil der in ungefärbten Vergleichspräparaten nachweisbaren Bakteriengranula färberisch zur Darstellung zu bringen. Für andere Bakterien, wie z. B. die des Milzbrandes, Streptokokken etc. liegen die Verhältnisse auch für die Beobachtungen am ungefärbten Präparate weniger günstig; färberisch bestehen die gleichen Schwierigkeiten. Trotzdem kann man sich am gefärbten Präparate, wie es ja auch Pfeiffer-Radziewsky getan haben, überzeugen, daß auch bei den genannten Infektionen durch Serumwirkung eine Korrosion der betreffenden Bakterien stattfindet, die zu einer Auflösung der Bakterien im Körper führt¹⁾. Romanowsky-Giemsa ist oft die Methode, welche am deutlichsten diese Vorgänge zur Darstellung bringt.

Schnelligkeit der Bakteriolyse. Die Leichtigkeit der Auf-

1) Es sei an dieser Stelle nur nebenbei erwähnt, daß die in Leukocyten befindlichen Bakterien, im Gegensatz zu den extracellulär sich auflösenden, sich gerade außerordentlich gut mit basischen Farbstoffen tingieren und daß auf diese Weise eine große Reihe Metschnikoffscher Schlußfolgerungen ihre ungezwungene Erklärung findet.

lösung der Bakterien und damit die Infreieitsetzung der Endotoxine ist bei den einzelnen Bakterienarten eine außerordentlich verschiedene; man geht wohl nicht fehl, wenn man an das eine Ende der Reihe die sich überaus leicht lösenden Vibrionen (Cholera, Metschnikoff etc., ferner auch die Coli- und Typhusbacillen etc.), an das andere Ende die überaus schwer löslichen Tuberkelbacillen und ihre Verwandten, die große Gruppe der säurefesten Bacillen, setzt.

Die Endotoxinlehre und ihre Beziehungen zur Klinik. Die Endotoxinlehre muß schon jetzt als ein gesicherter Bestandteil bakteriologischer Erkenntnis gelten und es erscheint mir notwendig, diese Ergebnisse der Bakteriologie endlich auch auf das Gebiet der Klinik anzuwenden und sie dann auch für die Beurteilung therapeutischer, speziell natürlich serumtherapeutischer Bestrebungen, zu verwerten.

Die Endotoxine erklären allein die durch die Bakterien gesetzten Krankheitserscheinungen. Wir wissen, daß das mechanische Moment nicht ausreicht, die durch Bakterien gesetzten Krankheitserscheinungen verständlich zu machen; der Nachweis von echten Toxinen ist bei der großen Mehrzahl der Bakterien als mißlungen zu betrachten. So bleiben zur ausreichenden Erklärung der klinischen Erscheinungen nur die Endotoxine übrig, die auch in einer großen Zahl von Fällen ein dem durch die lebenden Bakterien selbst erzeugten Krankheitsbilde ganz analoges hervorrufen können. Am leichtesten war der Beweis natürlich in den Fällen zu führen, in denen die Löslichkeit der in ungelöster Form injizierten Endotoxinträger (das sind die Bakterienleiber) die Versuchsanordnung erleichterte. Schwieriger gestaltete sich dieser Nachweis bei den schwer löslichen Staphylokokken, Streptokokken und bei den Milzbrandbacillen, bei denen auch die relativ hohe zur Vergiftung notwendige Endotoxindosis störend wirkt.

In stringenter Weise war der Beweis der Identität der Bakterien- und Endotoxinwirkung bisher für die Vibrionen (Cholera etc.) und für die Typhus- und Coli-Gruppe geführt worden.

Eine große Stütze hat inzwischen die Endotoxintheorie durch die im September 1903 publizierten Versuche von Macfadyen und Rowland¹⁾ erhalten, welche durch Zerreibung von Bakterien bei so tiefer Temperatur, wie sie die flüssige Luft ermöglicht, die in den Bakterienleibern enthaltenen Endotoxine in Freiheit zu setzen vermochten; speziell für die Tuberkelbacillen war das gleiche Koch in seinen mühevollen Arbeiten schon früher gelungen. Die beiden englischen Autoren sprechen in dem gebräuchlichen Sinne von den intracellulären „Toxinen“ der Mikroorganismen. Es braucht aber nur auf unsere obigen Ausführungen verwiesen zu werden, um klar zu stellen, daß es sich nicht um Toxine, sondern um Endotoxine handelt. Derartige Endotoxine haben Macfadyen und Rowland nachgewiesen bei Typhusbacillen, Streptokokken, Staphylokokken, Tuberkelbacillen etc. Es ist bemerkenswert und völlig in den Rahmen der Endotoxintheorie hineinpassend, daß diese Endotoxinlösungen den sterilen Tod der Tiere unter Umständen viel **schneller** herbeiführten, als es durch die massenhafteste bakterielle Infektion möglich wäre. Bei dieser müssen nämlich durch die bakteriolytischen Kräfte des Serums erst die Endo-

1) Macfadyen u. Rowland, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. p. 618. — Macfadyen, Ueber das Vorkommen und den Nachweis von intracellulären Toxinen. (Naturforsch. Versamml. Kassel 1903. p. 232.)

toxine in Freiheit gesetzt werden, die bei den Versuchen von Macfadyen und Rowland schon in gelöstem Zustande eingeführt wurden. Es sei erwähnt, daß nach Macfadyen und Rowland z. B. 2 ccm eines 10-proz. Bacillensaftes von Staphylokokken ein Versuchstier schon in 2 Stunden töteten.

Das **Streptokokkengebiet** und seine Beziehungen zur Endotoxinlehre. Es muß um so unverständlicher erscheinen, daß trotz dieser glänzenden Bestätigung von maßgebender Seite die Endotoxintheorie sich nur ganz langsam Eingang in die Klinik verschafft. Der allmähliche Umschwung beginnt sich auf dem jetzt so aktuellen Streptokokkenserumgebiete zu vollziehen und zwar, wie ich glaube, beeinflusst durch die über die Endotoxine von mir in der Berlin. klin. Wochenschr. 1903. No. 17—20 und im Biochem. Centralbl. 1904 niedergelegten Erörterungen. Der Tod der Tiere erfolgt nur durch die gelösten Endotoxine, nicht durch die Bakterien. Beweis: der sogenannte sterile Cholera- und Typhustod im Grenzfall der Serumwirkung (cf. Berlin. klin. Wochenschr. l. c.).

Ohne irgendwie in den tobenden Streit von Wert und Wertigkeit der von den einzelnen Autoren hergestellten Sera (Marmorek, Tavel, Aronson, Menzer, Meyer) eingreifen zu wollen, möchte ich doch gern zu dieser nicht nur theoretischen, sondern auch praktisch bedeutsamen Frage vom Standpunkte der Endotoxintheorie aus das Wort nehmen.

Menzer¹⁾ glaubt jetzt, daß unter der Wirkung des Serums eine Auflösung der Streptokokken zu stande kommt, und daß dabei Giftstoffe in Freiheit gesetzt werden. Er wendet jetzt daher in schweren akuten Fällen das Serum möglichst nicht an, um nicht durch zu große Mengen künstlich in Freiheit gesetzten Giftes den letalen Ausgang zu beschleunigen oder überhaupt erst herbeizuführen. Ebenso hat sich Meyer, früher wie Menzer ein Gegner dieser Anschauung, völlig auf den Boden der Endotoxinlehre gestellt und Versuche mitgeteilt, auf die wir nachher noch zurückkommen werden.

Als Menzer auf dem Kongreß für innere Medizin zu Leipzig, 1904, seinen Vortrag über Serumtherapie bei Gelenkrheumatismus hielt, und dabei u. a. anführte, daß die direkte Wirkung der Injektion des Streptokokkenserums bei einem streptokokkeninfizierten Menschen eine Temperatursteigerung sei, bemerkte Aronson²⁾ in der Diskussion, daß das Menzersche Serum Toxin enthalten müsse, da es eine Temperatursteigerung auslöse. Ich vermute, daß Aronson den Ausdruck Toxin in dem üblichen unrichtigen Sinne synonym mit Gift gebraucht hat. Ein Beweis für einen Toxingehalt des Menzerschen Serums ist noch in keiner Weise erbracht. Es erscheint durchaus plausibel und mit anderen Tatsachen in Analogie stehend, daß die Temperatursteigerung durch Endotoxine bedingt sei, welche unter der Wirkung des Serums aus den Streptokokken in Freiheit gesetzt wurden (cf. A. Wolff, Diskussionsbemerkungen). Eine Beeinflussung der Temperatur ist ein allen Endotoxinen gemeinsames Kriterium, wobei sich die einzelnen Endotoxine wieder different verhalten, indem die einen nur Temperatursteigerung

1) Menzer, Das Antistreptokokkenserum und seine Anwendung beim Menschen. (Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 25/26.) — Verhandl. des Kongr. f. inn. Medizin. Leipzig 1904. — Zur Streptokokkenserumfrage. (Berl. klin. ther. Wochenschr. 1904. N. 44.)

2) Aronson, Verhandl. des Kongr. f. inn. Medizin. Leipzig 1904.

herbeiführen, die anderen, wie Typhus- und Choleraendotoxine, in kleinen Dosen Temperatursteigerung erzeugen, in größeren dagegen nach vorübergehender Temperatursteigerung dauernden Abfall der Temperatur bewirken. Es ist vom Standpunkte der Endotoxintheorie ganz im Sinne Menzers, anzunehmen, daß das Serum wirklich Endotoxine in Freiheit setzt, also bakteriolytisch wirkt.

Fritz Meyers Streptokokkenendotoxinversuche. Die Versuche von Fritz Meyer¹⁾, durch die mir die Einfügung der Streptokokken in die bisher für Typhusbacillen und Cholera vibrien strikt bewiesene Endotoxinlehre geboten erscheint, sind folgende: Er infizierte 3 Mäuse mit einer gleichgroßen Menge von Streptokokken. Die eine erhielt gleichzeitig Antistreptokokkenserum, eine zweite bekam das Serum erst einige Stunden nach der Infektion. Diese zweite Maus starb stets viel früher, als die Kontrollmaus, die überhaupt kein Serum erhalten hatte, während die erste Maus am Leben blieb.

Meyer gibt an, diese Versuche immer mit gleichem Erfolge angestellt zu haben, so daß von Zufälligkeiten keine Rede sein kann. Die Erklärung der vorliegenden Versuchsergebnisse ist nach dem Mitgeteilten die folgende:

Das mit Streptokokken infizierte Tier stirbt nach einer gewissen Inkubationszeit, innerhalb derer die Vermehrung der Bakterien und das Freiwerden der Endotoxine stattfindet; bei der Maus, die gleichzeitig mit der Streptokokkeninfektion bakterizides Serum erhalten hat, ist die Bakteriolyse schon vollendet, bevor die Dosis letalis minima an Endotoxinen erreicht ist. Das Tier dagegen, das Antistreptokokkenserum erst einige Stunden nach der Infektion erhält, stirbt vor dem Kontrolltier, weil infolge der Serumzufuhr eine gegenüber dem Kontrolltier beschleunigte Auflösung der schon vorhandenen zahlreichen Streptokokken eintritt. Die Dosis letalis minima an Endotoxinen ist durch die in den ersten Stunden zu stande gekommene Vermehrung der injizierten Streptokokken vorhanden.

Der Versuch Aronsons, die Bedeutung dieser Versuche für die Endotoxinlehre dadurch zu entkräften, daß er darauf hinweist, daß ja die Streptokokken ganz ungestört im Antistreptokokkenserum wachsen, muß als völlig gescheitert betrachtet werden. Auch Cholera vibrien und Typhusbacillen wachsen und entwickeln sich ungehindert im Immunserum, ohne daß Aronson deswegen die Gültigkeit des Endotoxingesetzes für diese Bakterien bestritte! Da ohne Komplementzusatz keine Bakteriolyse eintritt und da ferner das Komplement — dieses bisher noch so rätselhafte fermentative Agens — außerhalb des Tierkörpers fast augenblicklich so geschädigt wird, daß es auf die Bakterien eine kaum nennenswerte Wirkung ausübt, so kann man *in vitro*, wenn man Streptokokken in Immunserum mit oder ohne Komplementzusatz aussät, kein Freiwerden von Endotoxinen erwarten! Pfeiffer hat doch wohl triftige Gründe gehabt, als er beim bakteriolytischen, i. e. endotoxischen Versuch die billige Reagenzglasprobe durch den teuren Tierversuch ersetzte, bei dem jedes Tier nur gleich einem Reagenzglasversuche zu bewerten ist.

Ich kann so zu meiner Freude konstatieren, daß Menzer und Meyer trotz ihres abweichenden früheren Standpunktes sich völlig auf

1) Fritz Meyer, Ueber Streptokokkenheilserum nach klinischen und experimentellen Beobachtungen. (Verein f. inn. Medizin. Sitzung 2. Mai 1904.)

den Boden der Endotoxinlehre gestellt haben und letzterer durch seine Versuche mit dazu beigetragen hat, derselben das große Streptokokkengebiet anzureihen.

(Unsere noch vorhandenen Differenzen in der Frage der Beteiligung der Leukocyten etc. sollen vielleicht später einmal besprochen werden.)

Die Endotoxintheorie und ihre Beziehung zur therapeutischen Bewertung der Streptokokkenserum. Aus den über die Endotoxine entwickelten Anschauungen scheint mir hervorzugehen, daß die durch das Antistreptokokkenserum bewirkte Bakteriolyse unter Umständen, d. h. wenn die Zahl der vorhandenen Bakterien eine schon große ist, den tödlichen Ausgang beschleunigen oder sogar überhaupt erst herbeiführen kann, indem das beschleunigte Freiwerden von Endotoxinen Erscheinungen erst auslöst, welche die langsame Resorption nicht hervorgebracht hätte. Es stimmt mit dieser Anschauung auch gut überein, daß Menzer und Meyer warnen, bei schweren Sepsisfällen das Serum zur Anwendung zu bringen.

Die Chancen, durch ein Streptokokkenserum eine heilende Wirkung zu erzielen, vermindern sich durch diese Erwägungen beträchtlich und eine therapeutische Anwendung wäre nur in den relativ seltenen Fällen indiziert, in denen die Bakterienzahl noch eine so geringe ist, daß die durch Serumwirkung freiwerdenden Endotoxine keine den Organismus gefährdende Wirkung ausüben können.

Hierfür aber ist es wohl oft schon zu spät, wenn die Inkubationszeit vorüber ist. Es ist nun sehr verständlich, wenn es Fr. Meyer, der viele Jahre seine Arbeit der therapeutischen Nutzbarmachung eines Serums zugewendet hat, schwer wird, diesen deprimierenden, wenn auch logischen Schluß zu ziehen. So nimmt er an, daß es ihm bei weiteren Versuchen gelingen werde, gegen die Endotoxine Antitoxine zu erzeugen. Er hatte sich anlässlich seines Vortrages so zuversichtlich ausgesprochen, daß man glauben konnte, er habe irgendwelche Versuche an der Hand, die für eine derartige Anschauung verwertet werden könnten; da er jedoch absolut kein beweisendes Material für diese Hoffnungen anzuführen vermochte, muß man wohl in diesem Punkte Aronson beistimmen, der sagte, daß Meyer für diese Behauptung keine Spur eines Beweises beigebracht habe.

Wir mußten die wichtige Frage über die aus der Endotoxintheorie für die therapeutische Bewertung der Streptokokkenserum sich ergebenden Schlußfolgerungen, auf die wir später noch einmal ausführlich zurückkommen, schon hier streifen, um auf das Grundproblem zu kommen: **Ist eine Antitoxinbildung gegenüber Endotoxinen möglich?**

Endotoxine und die Möglichkeit einer Antitoxinbildung. Es ist schon in der Definition des Endotoxins begründet, daß ihm gegenüber die Bildung von Antitoxin unmöglich ist, indem das Endotoxin nicht die Produktion von Antitoxin, sondern die Bildung von bakteriolytischen Immunkörpern auslöst und so aufs neue den Kreislauf zur Freimachung des Endotoxins eröffnet. Es ist in Betracht zu ziehen, daß eine Bildung von Antitoxin nach Injektion von Endotoxin bisher trotz aller Bemühungen noch niemals beobachtet worden ist.

II. Ueber die zwischen den Endotoxinen und Cytotoxinen (Zellgiften, Eiweißgiften) bestehenden Beziehungen.

Wir hatten im ersten Abschnitt gesehen, daß es bisher nicht gelungen ist, gegenüber Endotoxinen Antitoxine zu erzeugen.

Die Versuche, von denen sogleich berichtet werden soll, sprechen ebenfalls sehr dafür, daß auch in Zukunft eine Antitoxingewinnung gegen endotoxische Substanzen nicht zu erwarten steht. Gleichzeitig ergeben sich aus diesen Versuchen interessante Schlußfolgerungen über die zwischen der Leibessubstanz der Bakterien und dem Eiweiß der Körperzellen bestehenden Beziehungen.

Es sei gestattet, erst die Befunde kurz zu schildern:

Erfahrungen bei Immunisierungsversuchen; Empfindlichkeit. Beim Immunisieren von Tieren, speziell Kaninchen, machte

ich die sich immer wiederholende Beobachtung, daß kräftige, gesunde Kaninchen mit der Zeit die Injektionen immer schlechter vertrugen, ohne daß etwa eine Steigerung der Injektionsdosis stattgefunden hätte. Ich spreche hier nicht von den außerordentlich großen Tierverslusten durch die Kaninchenseuche, welcher eine sehr große Zahl von Tieren zum Opfer fallen, da die injizierten Tiere — gleichviel, um welche Injektion es sich handelt — fast völlig ihre Resistenz gegenüber dieser Infektion verlieren; sondern ich spreche ausdrücklich von Tieren, welche von Seuche freigeblieben sind und die man dann, oft sehr plötzlich, im Anschluß an die Wiederholung der Injektion verliert. Es wird wohl schon jeder, der solche unerklärliche Tierversluste hatte, versucht haben, sich mit der Erklärung zu trösten, daß vielleicht unglücklicherweise bei der Injektion Luft in eine Vene geraten sei und so durch Embolie der Lungen oder Gehirnarterien der Tod der Tiere veranlaßt worden sei.

An das klinische Bild der Luftembolie erinnert bei den vorstehend geschilderten Zufällen die Plötzlichkeit, mit der das Ende hereinbricht; einige Minuten lang besteht eine ganz kolossale Dyspnoë und unter klonisch-tonischen Krämpfen pflegt nach Verlauf weniger Minuten bis Stunden der Exitus zu erfolgen.

Von dem durch Luftembolie verursachten Symptomenkomplexe unterscheiden sich die geschilderten Erscheinungen jedoch dadurch, daß dem Beginne derselben ein Inkubationsstadium vorhergeht, in welchem den Tieren nichts anzumerken ist, abgesehen von dem schon nach der ersten Injektion auftretenden (entzündlichen) Bauchschmerz. Auch bei der sorgfältigsten Sektion finden sich bei den betreffenden Tieren keine Erscheinungen von Luftembolie. Schon die stets beobachtete Inkubationszeit würde genügen, um zu beweisen, daß diese Todesfälle nicht durch Luftembolie bedingt sein können¹⁾.

Bei peritonealer Injektion werden die Erscheinungen überdies in ganz gleicher Weise, noch verstärkt, beobachtet und bei diesem modus procedendi ist ja eine intravenöse Luftinjektion völlig auszuschließen.

Der obigen kurzen Schilderung der Symptome müssen noch einige Ergänzungen zugefügt werden. Es ist das Gewöhnliche, daß die Tiere nach der 2., 3. oder 4. Injektion an den geschilderten Erscheinungen, ganz besonders an hochgradiger Dyspnoë erkranken, sie erholen sich dann oft nach einigen Stunden wieder und bieten dann das Bild vollkommen gesunder Tiere. Macht man nun nach einiger Zeit die nächste Injektion an dem kräftigen, scheinbar völlig gesunden Tier, das inzwischen sein ursprüngliches Gewicht sogar überschritten hat, so stellen sich doch dieselben Erscheinungen in verstärktem Maße wieder ein und das Tier geht an denselben in kurzer Zeit zu Grunde.

Ich will hier noch keinen Erklärungsversuch für die mitgeteilten Tatsachen geben, sondern möchte hier nur auf die außerordentliche Ähnlichkeit hinweisen, welche die im Tierversuch beobachteten Erscheinungen mit den Zufällen haben, die Menzer nach wiederholter intravenöser Injektion seines Antistreptokokkenserums zustießen.

1) Ganz abgesehen von der in der jüngsten Zeit gemachten Beobachtung, daß ziemlich große Mengen von Luft, intravenös injiziert, getragen werden. Wolff, Experimentelle Studien über Luftembolie. (Virchows Archiv. Bd. CLXXIV. p. 454.)

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Beitrag zum Studium der Wirkung einiger Organextrakte bei den akuten Infektionsprozessen.

[Aus dem Institute für Pathologische Anatomie der Kgl. Universität zu Bologna, Direktor Herr Prof. G. Martinotti.]

Von Dr. Bindo De Vecchi, Assistenten und Privatdozenten.

Das durch die Untersuchungen von Pellacani¹⁾ 1879 begonnene Studium der Wirkung der wässerigen Organextrakte auf den tierischen Organismus hat in den letzten Jahren einen neuen Aufschwung erfahren und hat der pathologischen Physiologie der Gewebe neues Licht gebracht. Die Forscher haben unter Anwendung sowohl der älteren Methode, der Bereitung von Extrakten durch Zerreibung der Organe und Verdünnung derselben mittels einer physiologischen Lösung, wie der durch die neueren vorgeschlagenen Methoden (z. B. durch die Methode von Wooldridge) aus den Organen gewonnenen „Nukleoproteide“ die Folgen untersucht, die nach Injektion dieser Substanzen in den Organismus der Tiere zu stande kamen. Die Versuche wurden derart ausgeführt, daß den Tieren Extrakte oder Nukleoproteide, aus Tieren derselben oder verschiedener Art gewonnen, inokuliert werden. Die Menge des eingeführten Materials und der Einführungsweg wurde geändert. Die Ergebnisse waren ziemlich übereinstimmend: Die Arbeiten — ich beschränke mich darauf, die neuesten zu zitieren — von Galeotti²⁾, Guerrini³⁾, Ghedini⁴⁾, Cafiero⁵⁾ zeigen, wie die Inokulation solcher Substanzen bei den Zellelementen der verschiedenen inneren Organe Reizerscheinungen hervorruft, die später von nekrobiotischen Erscheinungen ersetzt werden. Einige Organe besitzen mehr als andere diese reizende oder toxische Eigenschaft, die scheinbar nicht spezifisch für das Gewebe ist, das demjenigen homolog ist, aus dem der Extrakt oder das Nukleoprotein gewonnen wurde, sondern sich auf alle Gewebe und Parenchyme des Organismus mehr oder minder intensiv äußert.

Andere Forscher — unter denen ich besonders Sabrazès und Rivière⁶⁾, Omeltschenko⁷⁾, Grasdiansky⁸⁾ erwähne — untersuchten die Wirkung, die die Organextrakte auf die Mikroorganismen

1) Pellacani, Effetti tossici delle diluizioni degli organi freschi. (Arch. per le Sc. mediche. Vol. III. 1879. No. 24.)

2) Galeotti, Azione dei nucleoproteidi sulle cellule e sui tessuti. (Lo Sperimentale. Vol. LIV. Fasc. 3.)

3) Guerrini, Dell'azione dei nucleoproteidi sulle cellule del parenchima epatico. (La Riforma med. Anno XIX. 1903. No. 26.)

4) Ghedini, Ricerche intorno ad alcuni estratti organici. (La Riforma med. 1903. p. 770.)

5) Cafiero, Sulle alterazioni indotte nei tessuti dai succhi d'organi e sieri citotossici. (La Riforma med. 1903. No. 30, 31.)

6) Sabrazès et Rivière, Sur les propriétés antiseptiques des extraits organiques etc. (Compt. rendu de la Soc. de biol. Paris 1893. 18 novem.)

7) Omeltschenko, Zur Pathogenese der allgem. Infektionskrankh. (Russisch.) (Bolnisch gaseta Botkina. 1901. No. 32.)

8) Grasdiansky, Développement de certaines bactéries sur des milieux préparés avec des organes internes. (Thèse de St. Pétersbourg 1902. Vrathebnaja gaseta. Ref. in Journal de Physiol. et Path. génér. 1902.)

entfalten, und kamen zu dem Schlusse, daß die Extrakte, zu den gewöhnlichen Kulturböden hinzugefügt oder selbst als Kulturböden verwendet, die Entwicklung verschiedener Keime verhindern oder geradezu unmöglich machen.

Diese von den verschiedenen Forschern beobachteten Erscheinungen führten mich dazu, diesen Gegenstand wieder zu prüfen und zu untersuchen, ob die in den tierischen Organismus eingeführten Organextrakte einen besonderen Einfluß auf die experimentellen Infektionsprozesse auszuüben vermögen, d. h. ob die allgemeine Reizwirkung, welche die Einspritzung von Organextrakten im ganzen Körper hervorruft, zu einer Zunahme oder zu einer Verminderung der Widerstandsfähigkeit der Tiere gegen die Infektionen führen kann, und ob die Extrakte in vivo ähnliche Eigenschaften aufweisen, wie sie dieselben gegen die Mikroorganismen in vitro besitzen.

Die Versuche mit Organotherapie bei den Infektionskrankheiten sind nicht absoluter Weise neu: Nach den Untersuchungen von Brown-Séguard versuchten einige Forscher die Extrakte aus verschiedenen Organen bei akuten und chronisch verlaufenden Infektionskrankheiten, allerdings mit wenig übereinstimmenden und wenig tröstlichen Ergebnissen. Allein die Untersuchungen wurden immer auf klinischem Gebiete ausgeführt, und die wenigen experimentellen Versuche an Tieren — von Grande¹⁾ an tuberkulösen Meerschweinchen angestellt, die mit Lungenextrakt behandelt wurden, und von Fornaca²⁾ an Meerschweinchen, die mit Organextrakten und Diphtherietoxin injiziert wurden — wurden ausnahmslos gelegentlich ausgeführt, zur Vervollkommenung der klinischen Experimente, ohne irgend einer gut definierten und genauen Untersuchungsmethode zu folgen.

Daß die verschiedenen Gewebe des Organismus während des Lebens eine besondere Wirkung auf die Mikroorganismen und deren Produkte besitzen, ist eine schon festgestellte Tatsache: So erhöht das Zentralnervensystem die Virulenz einiger experimentell in dasselbe eingeführter Mikroorganismen [Martinotti und Tedeschi³⁾, Tedeschi⁴⁾], während es einige in Berührung mit demselben gebrachte Toxine neutralisiert [Wassermann und Takaki⁵⁾ und andere hinsichtlich des Tetanustoxins, Calabrese⁶⁾ hinsichtlich der Rabies etc.]. Das Ovarium, das Herz, die Brustdrüse, das Nervengewebe bieten besondere Widerstände gegen die Entwicklung des Tuberkelbacillus. All dies deutet

1) Grande, Il polmone in Opoterapia. (La Riforma med. 1897. No. 33. p. 391.)

2) Fornaca, Sulla tossicità degli organi d'animali d'infettivi e su di alcune ricerche d'opoterapia antidifterica. (IX. Congr. della Soc. Ital. di Medic. int. Torino. Ottobre 1898.)

3) Martinotti und Tedeschi, Untersuchungen über die Wirkung der Inokulation des Milzbrandes in die Nervenzentra. (Centralbl. f. Bakt. Bd. X. 1891. No. 17.)

4) Tedeschi, Ueber die Wirkung der Inokulation des Rotzes in die Nervenzentra. (Centralbl. f. Bakt. Bd. XII. 1892. No. 4—5.)

Derselbe, Untersuchungen über die Wirkung der Inokulation der Tuberkulose in die Nervenzentra. (Centralbl. f. allgem. Pathol. und pathol. Anat. Bd. IV. 1893.)

5) Wassermann u. Takaki, Ueber eine neue Art von künstlicher Immunität. — Ueber Tetanus. Antitoxische Eigenschaften des normalen Zentralnervensystems. (Berliner klin. Wochenschr. 1898. 3. Jan.)

Marx, Ueber die Tetanusgift neutralisierende Eigenschaft des Gehirns. (Zeitschr. f. Hygiene und Infektionskrankh. Bd. XL. 1902. p. 231.) [Literatur.]

6) Calabrese, Posseggono i centri nervosi di animali sani e di animali immunizzati contro la rabbia, il potere di neutralizzare il virus rabico? (La Clinica mod. 1899. 18 genn. No. 2. 3.)

meiner Meinung nach darauf hin, daß in den verschiedenen Geweben (außer den speziellen Bedingungen von Blut- und Lymphkreislauf, der spezifischen Funktion, dem Sitze des Organs) sich besondere Substanzen vorfinden, welche fähig sind, die Entwicklung von einigen Infektionsprozessen zu begünstigen, oder aber, noch häufiger, sie zu verhindern, und wir diese Substanzen durch die Hitze vernichten oder verändern, wenn wir die gewöhnlichen Nährböden bereiten (z. B. während der Tuberkelbacillus in den Muskel- und Nervengeweben schwer gedeiht, entwickelt sich derselbe üppig in der mit Glycerin versetzten Muskel- und Gehirnbouillon).

* * *

Zur Ausführung der erwähnten Untersuchungen begann ich, verschiedene Mikroorganismen (Typhus, Milzbrand, *Bacillus coli*) zu versuchen. Schon im Anfang stieß ich aber auf die Schwierigkeit, ein Virus von so konstanter Wirkung zu erhalten, daß die notwendigen Kontrollversuche damit mit Sicherheit ausführbar wären. Anstatt besondere technische Verfahren anzuwenden, ließ ich die übrigen Mikroorganismen außer acht und verwertete allein den *Bac. icteroides* (Sanarelli)¹⁾, welcher seine Virulenz kaum abschwächt und erhöht. Er tötet ausnahmslos die Tiere binnen 4—5 Tagen, unter die Haut injiziert bei jeder angewendeten Dosis, ruft gut begrenzte Veränderungen in den Organen hervor. Er ist aus dem Blut in Reinkultur zu isolieren, entwickelt sich leicht binnen kurzer Zeit und mit Herden von eigentümlichem Aussehen auf den Nährböden. Aus diesen Gründen habe ich für meine Untersuchungen den *Bac. icteroides* gewählt, die neuerdings aufgeworfenen Fragen nach der Spezifität dieses Keimes außer acht lassend. Die experimentellen, miteinander übereinstimmenden Ergebnisse haben mir hinsichtlich der Wahl recht gegeben. Die Inokulation des Keimes geschah immer subkutan; die auf diese Weise inokulierten Tiere (erwachsene Kaninchen, *Mus musculus* var. *albina*) starben sicher nach 4 oder 5 Tagen.

Die Organextrakte wurden unter Anwendung eines besonderen Apparates²⁾ hergestellt, welcher mir gestattete, sie vollkommen steril zu erhalten. Ich bediente mich des Leber-, Milz- und Nebennierenextraktes und benutzte dabei die Organe von Kaninchen und Hunden. Auf diese Weise inokulierte ich den Versuchstieren Organextrakte, welche aus Tieren derselben oder verschiedener Art herrührten. Der Einführungsweg wurde auch geändert, einige Tiere erfuhren Extraktinjektionen sub-

1) Sanarelli, *Etiologia e patogenesi della febbre gialla*. (Ann. di medic. navale. Anno III. 1897.)

2) Dieses Instrument besteht aus einem hohlen Cylinder mit beweglichem Boden (mit zahlreichen und ganz kleinen Löchern versehen); ins Innere desselben läuft mittelst einer starken Handschraube ein vollkommen dichter Pumpentiefel. Das Organ wird zwischen dem äußeren Cylinder und den Pumpentiefel gelegt, dann wird der Boden verschlossen und die Schraube gedreht; aus den feinen Löchern des Bodens läuft ein sehr feiner Saft, der mit physiologischer Lösung verdünnt wird, im Inneren des Cylinders bleibt bloß das Bindegewebe des Organs zurück. Der ganze Apparat aus Messing kann bequem in der Hitze sterilisiert werden. Wenn eine gründliche Asepsis beim Herauspräparieren der Organe angewendet wird, sterilisiertes NaCl verwertet wird und die Extrakte gleichfalls in sterilen Glasgefäßen aufbewahrt werden, werden vollkommen keimfreie Flüssigkeiten erhalten, die einige Tage so aufbewahrt werden können. Der Apparat ist sehr einfach und praktisch und ersetzt für kleine Organe die kostspieligen Wasser- oder Handpreßwerkzeuge vorteilhaft.

kutan, andere intraperitoneal, einige bekamen gleichzeitig Virus und Organextrakt, andere wieder bekamen die Bakterieninjektion erst, nachdem sie durch mehr oder weniger längere Zeit mit den Extrakten behandelt waren. Selbstverständlich führte ich für jede Reihe der Versuchstiere (mit Organextrakt behandelt und mit *Bac. icteroides* injiziert) die gehörigen Kontrollversuche aus (d. h. ich inokulierte Tiere bloß mit dem Extrakt und Tiere bloß mit der Bouillonkultur des Keimes).

Während der Versuchszeit untersuchte ich das Gewicht, die Temperatur¹⁾ und den allgemeinen Zustand des Tieres; wenn ich es für zweckmäßig hielt, sammelte ich den Harn und führte die chemische Analyse desselben aus. Sofort nach dem Tode führte ich aus dem Herzblut Impfungen in schräge Agarröhrchen aus und sammelte in Fixierflüssigkeiten verschiedene Organstückchen zur histologischen Untersuchung an.

* * *

Die von mir ausgeführten Versuche können unter drei Hauptgruppen eingeteilt werden, je nach dem für die Extrakte verwendeten Organe; jede Hauptgruppe kann unter weiteren Untergruppen eingeteilt werden, je nach der Art und Weise des Versuchs.

Milz²⁾.

I. Gruppe: Kaninchen mit Milzextrakt subkutan oder intraperitoneal und gleichzeitig mit Bouillonkultur von *B. icteroides* inokuliert:

Tag		Tag		Tag	
	I.		II. Kr.		III. Kr.
30. X.	1 ccm s.k. Milzextr.	30. X.	1 ccm s.k. Milzextr.	30. X.	1 ccm s.k. B. ict.
1. XI.	1 " " B. ict.	1. XI.	1 " " "	2. XI.	tot
3. XI.	tot " " Milzextr.		lebt " weiter und bekommt andere Injektionen		
	IV.		V. Kr.		VI. Kr.
30. X.	1/2 ccm s.k. Milzextr.	30. X.	1/2 ccm s.k. Milzextr.	30. X.	1/2 ccm s.k. B. ict.
1. XI.	1/2 " " B. ict.	1. XI.	1 " " "	2. XI.	tot
2. XI.	tot " " Milzextr.		lebt " weiter und erhält andere Injektionen		
	VII.		VIII. Kr.		
30. X.	1 ccm s.k. Milzextr.	30. X.	1 ccm s.k. Milzextr.		Siehe No. III
1 " "	1 " i.p. "	1 " "	1 " i.p. "		
1. XI.	1 " s.k. B. ict.	1. XI.	1 " " "		
1 " "	1 " " Milzextr.		lebt " weiter und bekommt andere Injektionen		
2. XI.	1 " i.p. "				

1) Ich mußte diese Beobachtung unterbrechen, weil die thermometrische Kurve beim Kaninchen bekanntlich zu erhebliche Tagesschwankungen erfährt.

2) Abkürzungen: s.k. = subkutan, i.p. = intraperitoneal, Leberextr. = Leberextrakt, Milzextr. = Milzextrakt, B. ict. = Bouillonkultur des *Bacillus icteroides*, Neb.extr. = Nebennierenextrakt, Kr. = Kontrollversuch, + = Harnanalyse.

II. Gruppe: Kaninchen mit Milzextrakt subkutan oder intraperitoneal und später mit Bouillonkultur vom *B. icteroides* subkutan injiziert:

Tag		Tag		Tag	
IX.		X.		XI.	
30. X.	1 ccm s.k. Milzextr.	30. X.	$\frac{1}{2}$ ccm s.k. Milzextr.	30. X.	1 ccm i.p. Milzextr.
1. XI.	1 " " "	1. XI.	$\frac{1}{2}$ " " "	1. XI.	1 " s.k. "
3. XI.	1 " " "	3. XI.	1 " " "	1. XI.	1 " i.p. "
4. XI.	1 " " "	4. XI.	1 " " "	1. XI.	1 " s.k. "
	$\frac{1}{4}$ " " B. ict.		$\frac{1}{2}$ " " B. ict.	3. XI.	1 " " "
6. XI.	1 " " Milzextr.	6. XI.	1 " " Milzextr.	4. XI.	1 " " "
7. XI.	tot	8. XI.	tot		$\frac{1}{2}$ " " B. ict.
				6. XI.	1 " " Milzextr.
				9. XI.	tot

III. Gruppe: Kaninchen mit Hundemilzextrakt subkutan oder intraperitoneal und mit Bouillonkultur von *B. icteroides* subkutan injiziert:

Tag		Tag		Tag	
XII.		XIII.		XIV. Kr.	
2. I.	1 ccm s.k. Milzextr.	2. I.	1 ccm i.p. Milzextr.	13. I.	$\frac{1}{4}$ ccm s.k. B. ict.
4. I.	1 " " "	4. I.	1 " " "	17. I.	tot
6. I.	1 " " "	6. I.	1 " " "		
8. I.	1 " " "	8. I.	1 " " "		
10. I.	1 " " "	10. I.	1 " " "		
12. I.	1 " " "	12. I.	1 " " "		
13. I.	1 " " "	13. I.	1 " " "		
	$\frac{1}{4}$ " " B. ict.		$\frac{1}{4}$ " s.k. B. ict.		
18. I.	tot	18. I.	tot		

IV. Gruppe: Mäuse mit Kaninchenmilzextrakt subkutan oder intraperitoneal und mit Bouillonkultur von *B. icteroides* subkutan injiziert:

Tag		Tag		Tag	
A. (3 Mäuse α , β , γ)		B. (3 Mäuse α , β , γ)		C. (2 Mäuse α , β) Kr.	
3. XI.	$\frac{1}{4}$ ccm s.k. Milzextr.	3. XI.	$\frac{1}{4}$ ccm i.p. Milzextr.	3. XI.	$\frac{1}{4}$ ccm Milzextr.
4. XI.	$\frac{1}{4}$ " " B. ict.	4. XI.	$\frac{1}{4}$ " s.k. B. ict.	4. XI.	$\frac{1}{4}$ " "
6. XI.	$\frac{1}{4}$ " " Milzextr.	6. XI.	$\frac{1}{4}$ " i.p. Milzextr.	6. XI.	$\frac{1}{4}$ " "
α tot am 8. XI.		α , β tot am 8. XI.		8. XI.	$\frac{1}{4}$ " "
β , γ tot am 10. XI.		γ tot am 9. XI.			leben weiter
D. (2 Mäuse α , β) Kr.		E. (3 Mäuse α , β , γ) Kr.			
3. XI.	$\frac{1}{4}$ ccm i.p. Milzextr.	4. XI.	$\frac{1}{4}$ ccm s.k. B. ict.		
4. XI.	$\frac{1}{4}$ " " "	9. XI.	tot		
6. XI.	$\frac{1}{4}$ " " "				
8. XI.	$\frac{1}{4}$ " " "				
	leben weiter				

Bei diesen Versuchen ließ die Beobachtung des Gewichtes erkennen, daß die Versuchstiere bis zum Tode beständig an Gewicht abnahmen; der Harn ließ niemals fremde chemische Elemente seiner Zusammensetzung erkennen. Aus dem Herzblut wurde immer der Sanarellische *Bacillus* isoliert, in Reinkultur bei den Kaninchen, zuweilen anderen Keimen zugesellt bei den Mäusen. Die mit dem *Bac. icteroides* inokulierten Tiere zeigten bei der Sektion die bekannten makroskopischen Läsionen dieses Infektionsagens, die Milz mäßig vergrößert, die Thymusdrüse ebenfalls sehr angeschwollen, die Nieren blaß, die Leber mit gelben Flecken.

Die histologische Untersuchung dieser Tierreihe wurde von mir besonders auf die Milz gerichtet, doch habe ich auch die Leber, die Nieren,

die Thymus, den Pankreas, die Nebennieren untersucht zur Auffindung von eventuellen Veränderungen dieser Organe. Die mit Kaninchenmilzextrakt und Bouillonkulturen des *S. anarellischen* *Bacillus* inokulierten Kaninchen wiesen in der Milz keine histologischen Besonderheiten auf, welche sich von den bei den Kontrollkaninchen (d. h. bloß mit *Bac. icteroides*-Kulturen injiziert) beobachteten unterschieden. Man beobachtete nämlich einen akuten Milztumor, der aber nicht sehr erheblich war, von einer deutlichen Stauung, einer an mono- und polynukleären Elementen reichen Milzpulpe, von freiem Blutfarbstoff und Hyperplasie der Follikel gekennzeichnet. Solche Erscheinungen waren dagegen bei den bloß mit Milzextrakten inokulierten Kaninchen nicht wahrnehmbar. Bei den mit Hundemilzextrakten und Bouillonkulturen inokulierten Kaninchen fand man hingegen, daß die Milz eine sehr starke Blutstauung zeigte, die Pulpe war aber sehr spärlich und die Follikel wenig vergrößert; die fixen Bindegewebszellen der letzteren fanden sich entweder sehr geschwollen und von einem weiten leeren Raum umgeben oder waren im Zerfall begriffen, die Leukocyten waren dagegen normal und zeigten weder progressive, noch regressive Erscheinungen. Deutlicher waren anstatt dessen die histologischen Schädigungen in der Milz der mit *Bac. icteroides* und Kaninchenmilzextrakten inokulierten Mäuse. Die sehr vergrößerten Follikel zeigten zahlreiche Zerfallsherde; die Pulpe war auch reichlich, und was sie charakterisierte, war eine überaus große Zunahme der Riesenzellen, die sich normalerweise in der Milz der Maus vorfinden. Die Riesenzellen der Pulpe sind auch bei den bloß mit Milzextrakt inokulierten Mäusen reichlich vorhanden, so daß von denselben 8—10 für jedes Gesichtsfeld zu sehen sind; bei diesen Tieren ist aber keine gleichzeitige Zunahme der Pulpe, wie auch keine Follikelhyperplasie zu beobachten. Bei den bloß mit *Bac. icteroides* behandelten Kontrollversuchen ist der Milztumor sehr deutlich, Follikel sehr groß und nekrotisiert, sehr reichliche Pulpe; der Riesenzellen sind aber so wenige vorhanden, daß man in einem Präparat nur zwei oder drei Exemplare dieser Elemente finden kann.

Die Thymusdrüse bietet ebenfalls bemerkenswerte histologische Besonderheiten bei den Versuchstieren; die Blutstauung ist sehr erheblich, die Pulpe sehr reichlich und in derselben finden sich Lymphocyten, spärliche Leukocyten mit polymorphem Kern, pigmenthaltige Phagocyten, Makrophagocyten und spärliche polynukleäre Riesenzellen. Zuweilen sind frische und ältere Blutungen zu beobachten, das Grundgewebe des Organs ist vollkommen von Oedem durchsetzt. Diese Veränderungen, welche ebenfalls bei den bloß mit Bouillonkultur inokulierten Kaninchen deutlich sind, sind hingegen gar nicht wahrnehmbar bei den bloß mit Organextrakt injizierten.

Die übrigen Organe der Versuchskaninchen boten keine histologischen Besonderheiten zur Unterscheidung derselben von den Kontrolltieren; die Leber zeigt eine starke Blutstauung, eine körnige fettige Entartung der Leberzellen, deren Kern zuweilen angeschwollen und chromatinreich ist; die Niere zeigt die Zeichen eines eher erheblichen Prozesses glomerulärer Nephritis; die Nebennieren, der Pankreas zeigen keine nennenswerten Erscheinungen.

Die Untersuchung der Mikroorganismen bei den Schnitten der verschiedenen Organe der Versuchstiere bot mir keine bemerkenswerte Erscheinung hinsichtlich der Zahl und der Lokalisierung der Keime.

Leber.

I. Gruppe: Kaninchen mit Kaninchenleberextrakt und Bouillonkultur des *B. ictero-*
roides gleichzeitig inokuliert:

Tag		Tag		Tag	
	XV.		XVI. Kr.		XVII. Kr.
6. XI.	1 ccm s.k. Leberextr.	6. XI.	1 ccm s.k. Leberextr.	6. XI.	1 ccm s.k. B. ict.
9. XI.	1 " " B. ict.	11. XI.	lebt weiter	10. XI.	tot
	tot		getötet, sehr schwere		
			Coccidiosis d. Leber		
	XVIII.		XIX Kr.		
6. XI.	1 ccm s.k. Leberextr.	6. XI.	$\frac{1}{2}$ ccm s.k. B. ict.		
9. XI.	$\frac{1}{2}$ " " B. ict.	11. XI.	tot		
	tot				

II. Gruppe: Kaninchen, zuerst mit Kaninchenleberextrakt (subkutan und intraperitoneal)
behandelt, und dann mit Bouillonkultur des *B. icteroides* injiziert:

Tag		Tag		Tag	
	XX.		XXI.		XXII.
13. XII.	1 ccm s.k. Leberextr.	13. XII.	1 ccm i.p. Leberextr.	13. XII.	1 ccm i.p. Leberextr.
15. XII.	1 " " "	15. XII.	1 " " "	15. XII.	1 " " "
17. XII.	1 " " "	17. XII.	1 " " "	17. XII.	1 " " "
19. XII.	1 " " "	19. XII.	1 " " "	19. XII.	1 " " "
21. XII.	1 " " "	21. XII.	1 " " "	21. XII.	1 " " "
23. XII.	1 " " "	23. XII.	1 " " "	23. XII.	$\frac{1}{4}$ " s.k. B. ict.
25. XII.	1 " " "	25. XII.	1 " " "	25. XII.	1 " i.p. Leberextr.
	$\frac{1}{4}$ " " B. ict.		$\frac{1}{4}$ " sk. B. ict.		tot
28. XII.	1 " s.k. Leberextr.	28. XII.	1 " i.p. Leberextr.		
29. XII.	tot	30. XII.	tot		
	XXIII. Kr.		XXIV. Kr.		
13. XII.	1 ccm s.k. Leberextr.	13. XII.	1 ccm i.p. Leberextr.		
	erhält ähnliche In-		erhält ähnliche In-		
	jektionen jeden 2.		jektionen jeden 2.		
	Tag, am 15. Tag		Tag		
	getötet	28. XII.	tot		
	XXV. Kr.		XXVI. Kr.		
25. XII.	$\frac{1}{4}$ ccm s.k. B. ict.	21. XII.	$\frac{1}{4}$ ccm s.k. B. ict.		
30. XII.	tot	25. XII.	tot		

III. Gruppe: Kaninchen, zuerst mit Hundeleberextrakt subkutan oder intraperitoneal,
und dann mit Bouillonkultur des *Bac. icteroides* subkutan injiziert:

Tag		Tag		Tag	
	XXVII.		XXVIII.		XXIX.
2. I.	1 ccm s.k. Leberextr.	2. I.	1 ccm i.p. Leberextr.	13. I.	$\frac{1}{4}$ ccm s.k. Bac. ict.
4. I.	1 " " "	4. I.	1 " " "	17. I.	tot
6. I.	1 " " "	6. I.	1 " " "		
8. I.	1 " " "	8. I.	1 " " "		
10. I.	1 " " "	10. I.	1 " " "		
12. I.	1 " " "	13. I.	1 " " "		
13. I.	1 " " "		$\frac{1}{4}$ " s.k. Bac. ict.		
	$\frac{1}{4}$ " " Bac. ict.	19. I.	tot		
17. I.	tot				

IV. Gruppe: Mäuse mit Kaninchenleberextrakt und Bouillonkultur von *B. icteroides* gleichzeitig inokuliert:

Tag		Tag		Tag	
A. (3 Mäuse α , β , γ)		B. (3 Mäuse α , β , γ) Kr.		C. (3 Mäuse α , β , γ) Kr.	
6. XI.	$\frac{1}{2}$ ccm s.k. Leberextr.	6. XI.	$\frac{1}{2}$ ccm s.k. Leberextr.	6. XI.	$\frac{1}{4}$ ccm s.k. Bac. ict.
9. XI.	$\frac{1}{2}$ Bac. ict. tot gleichzeitig	9. XI.	Leben weiter, werden getötet binnen ver- schiedenen Zwi- schenräumen	9. XI.	α tot
			(Schluß folgt.)	10. XI.	β , γ tot

Nachdruck verboten.

Ueber das Vorhandensein von Komplement im Fibrin¹⁾.

Experimentelle Untersuchungen.

[Aus dem Institute für Hygiene der k. Universität in Siena.
(Direktor: Prof. Dr. A. Sclavo.)]

Von Dr. D. Ottolenghi, Assistenten.

Im Verlaufe einiger seit längerer Zeit fortgesetzter Studien über das Sclavosche Antimilzbrandserum²⁾, bei denen es mir, wegen besonderer Zwecke, darum zu tun war, bald die Wirkung des Komplementes, bald die der spezifischen Ambozeptoren in demselben auszuschließen, kam mir der Gedanke, ob sich hierzu nicht an Stelle der gewöhnlich angewendeten bekannten künstlichen Mittel jene Eigenschaft des Fibrins verwenden ließe, vermöge deren einige den Komplementen der Sera, wie die Fermente³⁾, oder den Ambozeptoren, wie die Enterokinase⁴⁾, ähnliche Substanzen den Flüssigkeiten, die solche enthalten, entzogen werden.

Die von mir angestellten Experimente haben mir zwar bisher nicht meinen Zweck zu erreichen gestattet, dagegen etwas dargetan, was wohl nicht ohne Wichtigkeit ist und hier mitgeteilt zu werden verdient.

Das, worauf ich anspiele, ist folgendes:

Wenn man, wie in dem in Tabelle A dargestellten Beispiele, Antimilzbrandserum nimmt, das durch passende Erhitzung des normalerweise

1) Der R. Accademia dei Fisiocritici in Siena in der Sitzung vom 27. Mai 1904 gemachte Mitteilung.

2) Diese Studien sind zu einem Teile in der Arbeit „Sul carbonchio sperimentale nelle cavie e sul valore protettivo del siero Sclavo contro tale infezione“ (Atti d. R. Accademia dei Fisiocritici in Siena. Vol. XIV. 1902) dargelegt und zum anderen Teile 1904 der Accademia dei Fisiocritici als vorläufige Mitteilung vorgelegt worden.

3) Ueber die fixierende Eigenschaft des Fibrins einigen Fermenten gegenüber vergl. Effront, J., Les enzymes et leurs applications. Paris 1899. p. 23; über die Beziehungen zwischen Fermenten und Komplement, welches letztere nunmehr von den meisten als ein echtes Ferment angesehen wird, vergl. Oppenheimer, C., Die Fermente und ihre Wirkungen. Leipzig 1903.

4) Die Eigenschaft der Enterokinase, sich ans Fibrin zu fixieren, und ihre Ähnlichkeit im Verhalten mit den hämolytischen und bakteriziden Ambozeptoren wurde besonders von Delezenne studiert, der seit 1902 zahlreiche Arbeiten darüber in den Compt. rend. de la Soc. de biol. veröffentlichte.

ihm eigenen bakteriziden Vermögens beraubt worden ist und es mit von besonderen Tieren herrührendem Fibrin behandelt, so erlangt es dieses Vermögen leicht mehr oder weniger vollständig wieder.

Tabelle A.
Einsaat = 17 028 Kolonien.

	Nach 3 Std. bei 35° Kolonien
1) Antimilzbrandserum, 0,5 ccm	40
2) 1 Stunde lang auf 58° erhitztes Antimilzbrandserum, 0,5 ccm	25 352
3) Antimilzbrandserum wie bei 2, mit Kaninchenfibrin behandelt	582

Bevor ich diese Experimente ausführlicher darlege, muß ich jedoch der Klarheit wegen einige Merkmale des Antimilzbrandserums erwähnen, sowie die Technik beschreiben, die ich bei Bereitung und Behandlung des Fibrins und bei Bestimmung des bakteriziden Vermögens des in Rede stehenden Serums befolgte. Dieses stammt von gegen den Milzbrandbacillus stark immunisierten Eseln und hat außer einem sehr hohen Präventiv- und Heilwert bei Tieren auch eine ausgeprägte bakterizide Wirkung in vitro diesem Keime gegenüber, eine Wirkung, die durch 1-stündiges Erwärmen des Serums auf 55—56° oder besser auf 58° aufgehoben werden kann. Das auf diese Weise inaktiv gemachte Serum erlangt jedoch seine ursprüngliche Kraft wieder, wenn man ihm kleine Mengen frischen, normalen Kaninchen-, Pferde- oder Eselserums zusetzt; der Zusatz von Meerschweinchen-, Hunde- oder Rinder Serum bleibt dagegen wirkungslos¹⁾. Hieraus und aus anderen Untersuchungen, über die ich hier nicht ausführlich berichte und die dartaten, daß Milzbrandbacillen, die einige Stunden lang mit auf 58° erhitztem Antimilzbrandserum behandelt und dann durch Zentrifugierung und Ausspülung aus diesem Serum befreit wurden, nach Zusatz von bestimmten, an und für sich inaktiven Mengen von frischem Serum, z. B. von Kaninchenserum,

1) Die Resultate der auf die Wirksamkeit des Rinder-, Hunde- und Meerschweinchen-serums sich beziehenden Experimente mitzuteilen, ist ganz überflüssig, denn in keinem Falle sah ich die Keime, die in mit diesen Sera versetztes Antimilzbrandserum gebracht wurden, sich vermindern. Dagegen halte ich es für angebracht, in Tabelle B ein Beispiel darzubieten für die Art und Weise, wie sich in dieser Hinsicht frisches (20 bis 24 Stunden altes) Kaninchen-, Esel- oder Pferdeserum verhält, wobei ich bemerke, daß, obgleich nicht selten Unterschiede in der reaktivierenden und bakteriziden Kraft dieser Sera, von einem Tiere zum anderen der gleichen Species, beobachtet werden, die Resultate doch wesentlich mit den in dieser Tabelle verzeichneten identisch sind. Stets erhält man also eine mehr oder weniger erhebliche Reaktivierung des erhitzten Antimilzbrandserums, wenn man demselben eine Dose (von 0,1—0,1 resp. 0,2 ccm pro 1 ccm erhitzten Antimilzbrandserum) Kaninchen-, Pferde- oder Eselserum zusetzt, das, für sich allein, aber mit einer dem Antimilzbrandserum entsprechenden Menge einer 0,85-proz. NaCl-Lösung versetzt, einer gleichen Dose Kultur gegenüber unschädlich ist.

Tabelle B.
1) Einsaat = 15 842 Kolonien.

	Nach 3 Std. bei 35° Kolonien
1) Antimilzbrandserum, 0,5 ccm	242
2) 1 Stunde lang auf 58° erhitztes Antimilzbrandserum, 0,5 ccm	23 764
3) Serum wie bei 2 + 0,01 ccm Kaninchenserum	4 158
4) " " " 2 + 0,05 " "	3 386
5) " " " 2 + 0,1 " "	1 188
6) " " " 2 + 0,2 " "	128
7) Kaninchenserum 0,01 ccm + 0,5 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung	über 25 000
8) " " 0,05 " + 0,5 " 0,85 " "	über 25 000
9) " " 0,1 " + 0,5 " 0,85 " "	14 261
10) " " 0,2 " + 0,5 " 0,85 " "	122

in großer Menge zu Grunde gingen, geht hervor, daß die bakterizide Kraft des von mir angewendeten Antimilzbrandserums abhängt von einem

2) Einsaat = 6356 Kolonien.

Nach 3 Std. bei 35°
Kolonien

1) Antimilzbrandserum, 0,5 ccm		
2) 1 Stunde lang auf 58° erhitztes Antimilzbrandserum, 0,5 ccm	} über	6500
3) Serum wie bei 2 + 0,01 ccm normales Eselserum		
4) " " " 2 + 0,05 " " "		
5) " " " 2 + 0,1 " " "		508
6) normales Eselser. 0,01 ccm + 0,5 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung	} über	8400
7) " " " 0,05 " + 0,5 " 0,85 " "		
8) " " " 0,1 " + 0,5 " 0,85 " "		

3) Einsaat = 8023 Kolonien.

1) Antimilzbrandserum, 0,5 ccm		190
2) 1 Stunde lang auf 58° erhitztes Antimilzbrandserum, 0,5 ccm	über	10 000
3) Serum wie bei 2 + 0,05 ccm Pferdeserum		957
4) 0,05 ccm Pferdeserum + 0,5 ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung	über	10 000

Ogleich ich betreffs der Wirkung der Erhitzung auf das Antimilzbrandserum und der Reaktivierung desselben durch verschiedene normale Sera in meiner eingangs zitierten vorläufigen Mitteilung schon mehrere meiner Untersuchungen dargelegt habe und in einer späteren Arbeit noch Genaueres zu berichten gedenke, glaube ich hier doch noch folgende Einzelheiten hinzufügen zu müssen: 1) Nicht immer wird das Antimilzbrandserum durch 1-stündige Erhitzung auf 58° vollständig inaktiviert, sondern aus unbekannten Gründen kann es mitunter trotz dieser Erhitzung eine schwache bakterizide Kraft bewahren, so daß sich darin eine etwas geringere Anzahl Kolonien entwickelt als auf den mit der gleichen Dose Kultur besäten, zur Kontrolle dienenden Agarplatten. 2) Auch ich habe wie Bail (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. p. 343) beobachtet, daß die einfache 1-stündige Erhitzung auf 55° dem Kaninchenserum die reaktivierende Kraft nicht zu entziehen vermag und daß, wenn normalerweise die reaktivierende Kraft des Kaninchenserums dem Antimilzbrandserum gegenüber durch eine 30 Minuten lange Erhitzung auf 63° aufgehoben wird, es dennoch, wie bei dem in Tabelle C dargestellten Experiment, geschehen kann, daß manche Kaninchen ein Serum liefern, dessen reaktivierende Kraft durch eine solche Erhitzung nicht gänzlich aufgehoben wird, wie dies ebenfalls Bail (l. c.) bezüglich der reaktivierenden Kraft des Kaninchenserums dem Hundeserum gegenüber gegen den Milzbrandbacillus beobachtet hat. 3) Das Kaninchenserum und auch das Serum der anderen Experimentiere kann — je nach dem Tiere, von welchem es herrührt — eine verschiedene bakterizide Kraft gegen den Milzbrandbacillus besitzen, weshalb es bei jeder Prüfung auf seine reaktivierende Kraft notwendig ist, mit ihm allein Kontrollplatten anzulegen, um festzustellen, inwieweit die Abtötung der Keime in dem Gemische von Antimilzbrandserum und normalem Serum von der Wirkung des letzteren und inwieweit sie von einer effektiven Reaktivierung des ersteren abhängt.

Was das normale Esel- und Pferdeserum anbetrifft, so zeigte das erstere, aber nur in äußerst wenigen Fällen, nach einer 1-stündigen Erhitzung auf 58° noch eine schwache reaktivierende Kraft, während das letztere, bei dem einzigen von mir geprüften Tiere, nach einer gleichen Behandlung als vollständig wirkungslos dem erwärmten Antimilzbrandserum gegenüber sich erwies.

Tabelle C.

Einsaat = 103 527 Kolonien.

Nach 3 Std. bei 35°
Kolonien

1) 1 Stunde lang auf 58° erhitztes Antimilzbrandserum, 0,5 ccm		90 806
2) Serum wie bei 1 + 0,05 ccm Kaninchenserum		15 136
3) " " " 1 + 0,1 " "		8 464
4) " " " 1 + 0,05 " 30 Min. lang auf 63° erhitztes Kaninchenserum		68 112
5) " " " 1 + 0,1 " idem		37 640
6) " " " 1 + 0,1 " Eselserum		37 780
7) " " " 1 + 0,1 " 1 Stunde lang auf 58° erhitztes Eselserum		75 680
8) 0,5 ccm Kaninchenserum + 0,5 ccm NaCl-Lösung	} über	100 000
9) 0,1 " " + 0,5 " "		
10) 0,1 " " + 0,5 " "		

in ihm vorhandenen thermostabilen Element, das sich an den Milzbrandbacillenkörper zu fixieren vermag, und einem thermolabilen Element, das bei 58° zerstört wird und das durch das Alexin der normalen Sera einiger Tiere ersetzt werden kann.

Beim Studium dieser bakteriziden Kraft pflege ich in folgender Weise vorzugehen:

Eine 18—20 Stunden alte Bouillonkultur des Milzbrandbacillus filtriere ich, nachdem ich sie, eventuell in einem, eine große Anzahl Glasperlen enthaltenden Erlenmeyerschen Kolben lange geschüttelt habe, durch ein feinporiges Papierfilter und verdünne das Filtrat, wenn erforderlich, mit einem oder mehreren Volumina Bouillon. Diese Emulsion enthält keine Bakterienflocken, sondern nur ganz kurze, aus 1 bis 3 Elementen zusammengesetzte, in der Flüssigkeit gleichmäßig verteilte Fäden, so daß die verschiedenen, natürlich sehr rasch nacheinander vorgenommenen Einsaaten immer ziemlich gleichmäßig ausfallen. Das Serum lasse ich so lange einwirken, als mir notwendig scheint, gieße dann von dem verflüssigten Agar etwas in jedes Röhrchen, schüttele die Mischung tüchtig und beschrifte damit Petri-Schälchen, von denen ich später die Kolonien prüfe und zähle.

Die gewöhnlich von mir angewendete Kulturmenge betrug 0,025 bis 0,1 ccm und die Inkubationsdauer bemaß ich auf 3 Stunden, weil ich bei vielen Versuchen bemerkt hatte, daß das Antimilzbrandserum fast immer genau nach 3 Stunden das Maximum von bakterizider Wirkung erlangt und daß andererseits die Kolonien, die sich, auch aus den nur 2—3 Stunden lang bei 35° gehaltenen Gemischen, nachher in den Platten entwickeln, fast ebenso groß sind wie die im Augenblicke der Einsaat aus der Kultur erhaltenen. Letzteres deutet an, daß während dieser Zeit die in die, obwohl inaktiven, Sera eingeführten Milzbrandbacillen noch keine viel längeren Fäden zu bilden vermochten als sie es ursprünglich waren, sonst würden die Kolonien größer erscheinen. Die Zahl der Kolonien, welche aus den 3 Stunden lang im Thermostaten gehaltenen Sera sich entwickeln, kann daher, ohne daß man schwere Rechenfehler zu fürchten braucht, mit denjenigen verglichen werden, die in den, im Augenblicke der Infizierung der Seragemische mit der Kultur allein angelegten Kontrollplatten gewachsen sind. Um übrigens die Fehlerquellen noch mehr herabzumindern, braucht man nur die Serumproben vor Hinzufügung des Agars tüchtig zu schütteln und bei Untersuchungen wie die vorliegenden die mit dem erhitzten Antimilzbrandserum angelegten Platten zu prüfen; natürlich muß dieses ebenso lange im Thermostaten gehalten und in gleicher Weise infiziert worden sein wie die Gemische, in denen man die reaktivierende Wirkung der normalen Sera oder des Fibrins prüft.

Wie schon bemerkt, legte ich die Platten in der Weise an, daß ich zuerst verflüssigten Agar in die die Sera enthaltenden Eproutetten goß und dann mit diesem Gemische Petri-Schälchen beschriftete. Hinzufügen möchte ich noch, daß allerdings bei solchem Vorgehen eine gewisse Menge Agar und also auch eine gewisse Anzahl Keime in den Eproutetten zurückbleibt, doch ist, wenn man immer den gleichen Agar in der gleichen Dose und bei gleicher Temperatur verwendet, das am Röhrchen haften bleibende Material ein fast konstanter Bruchteil des ganzen Gemisches, und wenn das Agarserumgemisch gut bereitet worden ist, ist die Anzahl der Keime, die der Platte entzogen wird, der im Röhrchen zurückbleibenden Agar- und Serummenge proportional, weshalb

auch die Zahl der nachher in einer Reihe Platten angetroffenen Kolonien in einer jeden derselben um ein gleiches geringer sein wird. Und hiervon habe ich mich direkt überzeugt, indem ich die Zählung der in den einzelnen Gläschen in der dünnen Agarschicht zurückgebliebenen Kolonien zu wiederholten Malen vornahm.

Zur Herstellung der Platten verwendete ich konstant 10 ccm Agar (den ich mit 1 Proz. Agar bereitete, damit er nach Schmelzung etwas flüssiger sei und möglichst wenig davon an den Gläschen haften bleibe). Der Zweifel, daß er in dieser Dose die bakteriziden Sera nicht genügend zu verdünnen vermöchte und daß diese deshalb in den Platten auf die Keime weiter wirken könnten, wurde durch einige Untersuchungen gehoben, bei denen es sich zeigte, daß, wenn man zu 10 ccm Agar vor der Einsaat einer bestimmten Menge Milzbrandkultur 0,5 ccm (die bei diesen Versuchen angewendete Maximaldosis) stark bakteriziden Serums (wie frisches Antimilzbrandserum) zusetzt, keine geringere Anzahl von Kolonien sich entwickelt als bei Abwesenheit von Serum, und daß es unter solchen Verhältnissen ganz gleich ist, ob man die Platten mit 10, mit 20 oder mit 30 ccm Agar herstellt. Dies stimmt übrigens auch mit der Beobachtung Petterssons¹⁾ überein, der, die Diffusibilität einiger bakterizider und hämolytischer Sera in Agar und Gelatine studierend, sah, daß die erstere Substanz, zum Unterschiede von der letzteren, den Durchgang der aktiven Stoffe solcher Sera nicht gestattet.

Endlich wurden die Platten, nachdem sie nur 14–16 Stunden im Thermostaten geblieben waren, zur Zählung der Kolonien geprüft; nach dieser Zeit ließ sich nämlich aus der Größe der Kolonien durch Vergleichung mit den Kontrollplatten leichter erkennen, ob etwa die eine oder andere aus Bacillenhaufen oder langen Fäden entstanden war, welchem Umstande Rechnung getragen werden mußte. Nach ausgeführter Zählung brachte ich die Platten wieder in den Thermostaten zurück, um festzustellen, ob weitere Kolonien sich zeigen würden; aber gewöhnlich blieb die erste Zählung die definitive.

Was das Fibrin anbetrifft, so bereitete ich es in der Weise, daß ich das Blut, das aus einer in die Jugularvene (Pferd, Esel, Hund) oder in die Carotis (Kaninchen, Meerschweinchen) gesteckten Kanüle oder direkt aus der zuerst freigelegten, dann eingeschnittenen Carotis (Rind) in Glasperlen enthaltende Kolben strömte, gehörig schlug. Nach erfolgter Defibrination dekantierte und zentrifugierte ich das Blut, um das Serum zu sammeln, während ich das Fibrin durch Schütteln mit oft erneuerter 0,85-proz. NaCl-Lösung oder destilliertem Wasser so lange spülte, bis es, im ersteren Falle, sichtlich keine roten Blutkörperchen mehr an die Flüssigkeit abgab oder bis es, im letzteren Falle, vollständig weiß wurde. Hierauf zerschnitt ich das Fibrin unter den strengsten Vorsichtsmaßregeln, um Verunreinigungen zu verhüten, in erbsengroße Flöckchen, die ich, nachdem ich sie auf Filtrierpapier so lange hin und her bewegt hatte, bis sie keine Flüssigkeit mehr abgaben, genau wog. Denselben setzte ich dann ihrem Gewicht proportionierte Mengen Serum zu, und zwar, abgesehen von einigen Versuchen, die mir als Richtschnur dienten, zu jedem Decigramm Fibrin 1 ccm Serum, das ich bei gewöhnlicher Temperatur (24–26° C) und im Dunkeln 3 Stunden lang mit demselben in Kontakt ließ: $\frac{1}{2}$ ccm dieses Serums verwendete ich, um es auf seine bakterizide Kraft zu prüfen.

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXX. 1901. p. 726.

Ich bemerke noch, daß das mit destilliertem Wasser gespülte Fibrin mir etwas weniger aktiv erschien als das mit NaCl-Lösung gespülte, weshalb ich letztere vorzugsweise zur Spülung anwendete.

Ich sagte gleich zu Anfang, daß das erhitzte Serum durch Fibrin nur dann reaktiviert wurde, wenn dieses von besonderen Tieren stammte. Genauer gesagt, erfolgte die Reaktivierung konstant und ungefähr im gleichen Grade bei Anwendung von normalem Kaninchen-, Esel- und Pferdefibrin, blieb dagegen aus bei Meerschweinchen-, Rinder- und Hundefibrin; also die gleichen Tiere, deren Serum erhitztes Antimilzbrandserum zu komplettieren vermag, haben auch ein aktives Fibrin. Ich vermutete nun, daß diese besondere Eigenschaft des Fibrins sich ganz einfach durch dessen außerordentliches Imbitionsvermögen erklären lasse, vermöge dessen — während der Defibrination des Blutes — etwas Serum in seinen Maschen zurückgehalten werde und daß diesem allein die Reaktivierung des erhitzten Antimilzbrandserums beizumessen sei.

Die reichliche Spülung, welcher das Fibrin jedesmal wiederholt unterworfen wurde, brauchte ich doch gewöhnlich für wenige Decigramm Fibrin 700—800—1000 ccm Flüssigkeit, ließ zwar indirekt eine solche Annahme als wenig haltbar erscheinen. Dennoch schien es mir notwendig, jeden Zweifel durch direkte Versuche auszuschließen, und da eben die gleichen Tiere, die aktives Fibrin liefern, auch ein stark bakterizides Serum gegen den Milzbrandbacillus haben, schien mir, daß ein sicherer Schluß sich aus der Prüfung des Fibrins auf eine eventuelle bakterizide Kraft ziehen lassen dürfte, die, wenn vorhanden, mit Wahrscheinlichkeit der Anwesenheit von Ambozeptoren und Alexin und also von Serum im Fibrin zugeschrieben werden müßte. Ein weiteres Kriterium für einen sicheren Schluß war zu erwarten, wenn man die reaktivierende Kraft des Fibrins und die des Serums des gleichen Tieres miteinander verglich. Diese beiden Reihen von Versuchen nahm ich nun besonders am Kaninchen, aber auch, und mit ähnlichen Resultaten, am Pferde und Esel vor, und zwar in folgender Weise: 1) Große Fibrinflocken, die sich bei Kontrollversuchen als aktiv erwiesen hatten, drückte ich nach der gewöhnlichen Spülung gut aus, bis kein Tropfen Flüssigkeit mehr in ihnen enthalten war, und bestimmte die bakterizide Kraft dieser Flüssigkeit. 2) In Bruchteile einer und derselben Probe von 1 Stunde lang auf 58° erhitztem Antimilzbrandserum brachte ich gleiche Mengen von dem Fibrin oder dem Serum, das ich durch Zentrifugation aus dem Blute des gleichen Tieres erhalten hatte, dem entweder gleichzeitig oder 18—20 Stunden vorher etwas Blut zur Bereitung von Fibrin und Serum durch Koagulation entnommen war; diese Gemische ließ ich gleich lange stehen und prüfte dann an gleichen Mengen derselben die bakterizide Kraft einer gleichen Dose Kultur gegenüber.

Diese Versuche taten übereinstimmend dar: 1) daß die, selbst aus 2—3 dg wiegenden Fibrinflocken ausgepreßte Flüssigkeit gegen den Milzbrandbacillus unschädlich ist, während — wie ich schon bemerkte — nur $\frac{1}{2}$ dg Fibrin, einer entsprechenden Dose erhitzten Antimilzbrandserums zugesetzt, diesem die Eigenschaft, eine sehr große Anzahl Milzbrandbacillen abzutöten, wieder verleiht; 2) (s. Tabelle D) daß das Fibrin als Reaktivierungsmittel bei gleichem Gewicht¹⁾ wohl

1) Nur das Fibrin wurde direkt gewogen, und zwar brauchte ich 1 dg pro 1 ccm des zu reaktivierenden Serums; von den normalen Sera dagegen nahm ich als ent-

ebenso oder etwas weniger aktiv als das durch Koagulation bereitete Serum, doch immer aktiver ist als das durch Zentrifugation aus dem gleichen defibrinierten Blute, wo dieses Fibrin entstanden ist, erhaltene. Es ist klar, daß, wenn die Wirksamkeit des Fibrins durch das in ihm enthaltene Serum bedingt wäre, das natürlich nicht in solcher Menge sein kann, daß es das ganze Gewicht desselben ausmacht, das Fibrin auch immer weniger wirksam als das durch Zentrifugation bereitete Serum sein müßte.

Tabelle D¹⁾.

Einsaat = 18 567 Kolonien.

	Nach 3 Std. Kolonien über 19 000
1) 0,5 ccm von 1 Stunde lang auf 58° erhitztem Antimilzbrandserum	
2) Serum wie bei 1 + (durch Koagulation erhaltenes) normales Kaninchenserum, 0,05 ccm	0
3) Serum wie bei 1 + (durch Zentrifugation erhaltenes) normales Kaninchenserum, 0,05 ccm	360
4) Serum wie bei 1, behandelt mit Kaninchenfibrin (das aus dem Blute bereitete wurde, dessen Serum bei 2 und 3 gedient hat)	0
5) Serum wie bei 1 + mit 0,85-proz. NaCl-Lösung bereiteten Extrakt einer Portion des Fibrins, von welchem eine andere Portion bei 4 gebraucht wurde	0
6) Fibrinextrakt wie bei 5	∞

Diese Resultate schließen indessen für sich allein nicht absolut den Verdacht aus, daß das Fibrin vermöge einiger an ihm haften bleibender Spuren von Serum wirke. Denn, wenn wir z. B. Kaninchenserum dem erhitzten Antimilzbrandserum zusetzen, bilden wir ein Gemisch, in welchem wir sozusagen einerseits die Ambozeptoren des Kaninchensersums und die des Antimilzbrandserums und andererseits das Alexin oder die Alexine des Kaninchensersums haben. Nun wäre es ja möglich, daß das Alexin, das sich den spezifischen Ambozeptoren des Antimilzbrandserums gut anpaßt, eine gleiche oder eine größere Affinität für andere, aber gegen den Milzbrandbacillus nicht in gleicher Weise oder überhaupt nicht wirksame Ambozeptoren, sowohl des einen als des anderen Serums, habe und daß deshalb die Reaktivierung jener bestimmten Dose Antimilzbrandserums durch eine bestimmte Dose frischen Kaninchensersums in geringerem Maße erfolge als es der Fall sein könnte, wenn man ersterem reines Alexin beimischen könnte. Bail und Pettersson²⁾ haben ja vor kurzem dargetan, daß Brei von Kaninchenorganen, in vitro dem Kaninchenserum beigemischt, diesem die spezifischen Ambozeptoren für den Milzbrand entzieht und das entsprechende Alexin frei läßt. Wäre es nun nicht möglich, daß sich das Fibrin in ähnlicher Weise verhalte und daß deshalb eine ganz kleine, an ihm haften bleibende Menge Serum dadurch, daß sich sein Komplement mehr frei findet,

sprechende Menge $\frac{1}{10}$ ccm, und da die Dichte der Sera etwas größer ist als 1, brauchte ich in Wirklichkeit Mengen von ihnen, die etwas mehr wogen als die Fibrinmenge, wodurch indessen die Resultate noch mehr Beweiskraft erlangen.

1) Bei den in dieser und in den nachfolgenden Tabellen angegebenen wie überhaupt bei allen in dieser Arbeit beschriebenen Experimenten brauchte ich stets 0,1 ccm und 0,1 g Fibrin pro 1 ccm des zu reaktivierenden Serums. Die Fibrinextrakte bereitete ich in der Weise, daß ich jedem Decigramm trockenen Fibrins 0,1 ccm NaCl-Lösung zusetzte und dann 0,1 ccm der resultierenden Flüssigkeit mit 1 ccm Serum vermischte, so daß auch in diesem Falle pro 1 ccm Serum das Produkt der Digestion von 1 dg Fibrin gebraucht wurde.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1903. p. 445 u. 540.

noch stärker auf das Antimilzbrandserum wirkt als eine größere Dose kompletten Serums?

Doch, wenn dem so wäre, d. h. wenn im Grunde genommen die Erscheinung nur durch das bischen Serum, das trotz wiederholter Spülungen im Fibrin zurückgeblieben, bedingt wäre, dann müßten wir nach Verminderung der im Fibrin enthaltenen Flüssigkeitsmenge dessen Wirksamkeit mehr oder weniger stark abnehmen sehen. Nunwohl (s. Tabelle E), bei gleichem Gewicht ist das durch leichtes Reiben auf Filtrierpapier getrocknete Fibrin weniger wirksam als das gleich lange gespülte, aber durch wiederholtes starkes Zusammenpressen zwischen Filtrierpapierblättern getrocknete des gleichen Tieres, woraus folgt, daß das, was dem Fibrin die reaktivierende Kraft verleiht, an demselben adhäriert und nicht in der es durchtränkenden Flüssigkeit enthalten ist.

Tabelle E.

Einsaat = 16 562 Kolonien.

	Nach 3 Std. Kolonien
1) 0,5 ccm 1 Stunde lang auf 58° erhitztes Antimilzbrandserum	9081 ¹⁾
2) Serum wie bei 1 + 0,05 ccm Kaninchenserum	156 ¹⁾
3) " " " 1 mit Kaninchenfibrin behandelt	227
4) " " " 1 mit vollständig auf Löschpapier getrocknetem Kaninchenfibrin behandelt	39

Diese Adhäsion ist jedoch keine so feste wie diejenige, welche zwischen einigen Fermenten und dem Fibrin oder zwischen den hämolytischen Ambozeptoren und den roten Blutkörperchen zu bestehen pflegt, denn die in Rede stehende aktive Substanz geht leicht in die wenige Stunden lang mit dem Fibrin in Kontakt gehaltenen Sera und auch rasch in die physiologische NaCl-Lösung über. Ja, das wässerige Extrakt, das man erhält, wenn man das Fibrin 2—3 Stunden lang im Dunkeln mit NaCl-Lösung digeriert, ist, da es dieselbe Eigenschaft besitzt wie jenes, ein sehr bequemes Mittel, um die in Rede stehende Erscheinung zu studieren²⁾.

Ueber die Natur dieses im Fibrin enthaltenen aktiven Prinzips gestatten, wie mir scheint, einige durch meine Versuche aufgeklärte Tatsachen ein ziemlich sicheres Urteil abzugeben. Denn, wenn man erwägt 1) daß nur — wenigstens von den zu den Versuchen verwendeten — jene Tiere, die ein zur Reaktivierung des Antimilzbrandserums geeignetes Serum besitzen, auch mit der gleichen Eigenschaft ausgestattetes Fibrin liefern; 2) daß die mit dem Fibrin eines Tieres erhaltene Reaktivierung der mit dem Serum des gleichen Tieres erhaltenen sehr ähnlich ist; 3) daß dem Fibrin oder dem wässerigen Extrakte aus demselben, wie aus Spezialversuchen hervorging, durch die Hitze und genauer gesagt, durch eine gleich starke Erhitzung, wie sie zur Erzielung desselben Effekts bei dem Serum der gleichen Tiere (30 Minuten lange Erhitzung auf 63° beim Kaninchen, 1-stündige auf 58° beim Pferde und Esel) erforderlich ist, die reaktivierende Kraft entzogen werden kann; 4) daß z. B. mit Kaninchenfibrin reaktiviertes Antimilzbrandserum, wenn man es alt werden läßt, viele Tage lang seine bakterizide Kraft bewahrt und sie erst verliert, wenn man es, je nach den Fällen, 15 Tage oder länger dem diffusen Lichte und der Zimmer-

1) Viele Kolonien sind sehr groß.

2) Anderen Experimenten nach wäre zur Extrahierung der in Rede stehenden Substanz aus dem Fibrin das Glycerin noch geeigneter als die NaCl-Lösung.

temperatur ausgesetzt hat, wie dies gleichfalls geschieht, wenn es mit Serum von demselben Tiere, das das Fibrin lieferte, versetzt worden ist; 5) daß z. B. Serum und Fibrin von demselben Kaninchen, wenn sie 15–20 Stunden lang vollständig auf H_2SO_4 eingetrocknet werden, die reaktivierende Kraft, die sie ursprünglich besaßen, trotz dieser Behandlung in gleicher Weise intakt bewahren; 6) daß sich weder im Fibrin noch in dem wässerigen Extrakt aus demselben eine bakterizide Kraft konstatieren läßt und deshalb betreffs ihrer Wirkung auf Antimilzbrandserum nicht an einen einfachen Uebergang von der Reaktivierung des Serums simulierender bakterizider Substanz, sondern nur an eine wirkliche, der mit den Sera erzielten ähnliche Reaktivierung gedacht werden kann, erscheint der Schluß sehr wahrscheinlich, daß die aktive Substanz des Fibrins nichts anderes sei als jenes zum spezifischen Ambozeptor des Antimilzbrandserums gut passende Komplement des Serums der gleichen Tiere, von denen das Fibrin stammt.

Zur Stütze dieser Hypothese will ich folgende Tatsache anführen (s. Tabelle F). Wenn man aus dem einem Kaninchen entnommenen Blute einerseits in der gewöhnlichen Weise durch Koagulation des Blutes Serum, und andererseits durch Zentrifugation des defibrinierten Blutes Fibrin und Serum bereitet, so gewahrt man — ganz gleich, ob die Zentrifugation gleich oder erst einige Stunden nach der Blutentnahme vorgenommen worden ist — daß die reaktivierende Kraft dieses letzteren Serums konstant geringer ist als die des Fibrins und auch geringer als die des durch die Koagulation erhaltenen Serums¹⁾. Wird jedoch das gesammelte Fibrin in das durch die Zentrifugation erhaltene Serum — oder auch in das defibrinierte Blut — wieder zurückgebracht und be-

Tabelle F.

Einsaat = 19 521 Kolonien.

	Nach 3 Std. Kolonien
1) 0,5 ccm 1 Stunde lang auf 58° erhitztes Antimilzbrandserum	18 744
2) Serum wie bei 1 + 0,05 ccm (durch Koagulation erhaltenes) Kaninchenserum	3
3) Serum wie bei 1 + 0,05 ccm (durch Zentrifugation aus dem Blute gleich nach der Defibrination erhaltenes) Kaninchenserum	452
4) Serum wie bei 1 + 0,05 ccm (durch Zentrifugation aus dem Blute gleich nach der Defibrination erhaltenes und dann mit dem gleichen Fibrin behandeltes) Kaninchenserum	21
5) Serum wie bei 1 + 0,05 ccm (aus dem Blute 4 Stunden nach der Defibrination zentrifugiertes) Kaninchenserum	460
6) Serum wie bei 1 + 0,05 ccm (aus dem Blute 4 Stunden nach der Defibrination zentrifugiertes und dann mit dem gleichen Fibrin behandeltes) Kaninchenserum	40
7) Serum wie bei 1 mit Kaninchenfibrin behandelt	4
8) Serum wie bei 1 + Extrakt von Kaninchenfibrin in 90-proz. NaCl-Lösung	0

1) Ähnliches hat Walker (Journ. of Hyg. 1903. p. 52 u. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. p. 297) bei einigen Experimenten über die bakterizide Kraft des Hammel- und Kaninchenserums gegen den Typhusbacillus und den Streptococcus wahrgenommen. Er sah, daß das defibrinierte Blut das Maximum von Wirksamkeit gleich nach der Defibrination aufweist, während das durch die Koagulation erhaltene und mit dem Gerinnsel in Kontakt gelassene Serum in den ersten Stunden beständig an Wirksamkeit zunimmt, und zwar, wie er meint, weil das Gerinnsel nach und nach neues Komplement an das Serum abtritt.

Ebenso will Walker bei Experimenten an Tieren wahrgenommen haben, daß mit inaktiven Sera bereitete Extrakte von (durch Zentrifugation der in ihnen enthaltenen Flüssigkeit beraubten) Gerinnseln Komplement enthalten. Daß dieser letztere Befund in Zusammenhang steht mit dem, was ich beim Fibrin beobachtete, läßt sich nicht in Abrede stellen.

stimmt man nach 3—4 Stunden wieder die reaktivierende Kraft jenes mit Fibrin versetzten oder des durch die Zentrifugation jenes Blutes erhaltenen, mit Fibrin versetzten Serums, so gewahrt man, daß die reaktivierende Kraft merklich zugenommen hat.

Dieses Resultat nun, das ich bei vielen, unter den gleichen Verhältnissen ausgeführten Experimenten konstant erhielt, läßt sich, wie mir scheint, nur durch die Annahme erklären, daß bei der Defibrination sich in dem Fibrin ein Teil von jenem, einen normalen Bestandteil von dem Serum bildenden quid anhäuft, das durch eine passende Erhitzung zerstört wird und das die bakterizide Kraft des erhitzten Antimilzbrandserums wieder herzustellen vermag — ein quid, das man mit dem Namen Alexin oder Komplement zu bezeichnen pflegt.

Es blieb nun festzustellen, in welcher Weise diese Tatsache erfolgt. Gegen die einfachste Hypothese, daß während der Defibrination das — entweder im Plasma schon frei vorhandene oder infolge dieser Operation im Serum frei werdende — Alexin, kraft einer besonderen Affinität des Fibrins, sich in Menge in diesem anhäuft, sprechen mehrere Tatsachen, die sich besonders gut beim Kaninchen erheben lassen und die schon zum Teil erläutert wurden:

A. Das 30 Minuten lang auf 63° erhitzte und deshalb für den Milzbrandbacillus unschädlich gewordene Kaninchenserum erlangt wieder ein starkes bakterienfeindliches Vermögen, wenn man es — in den schon angegebenen Proportionen und eine gewisse Zeitlang — mit Kaninchenfibrin behandelt.

B. Das durch Zentrifugation erhaltene Serum ist gegen den Milzbrandbacillus weniger stark bakterizid und reaktiviert das Antimilzbrandserum in geringerem Grade als das durch Koagulation erhaltene, erfährt aber in dem einen und anderen Vermögen eine bedeutende Steigerung, wenn man es mit Fibrin aus dem gleichen Blute, aus dem jenes Serum stammt, behandelt.

C. Kaninchenfibrin, das einige Tage lang mit Antimilzbrandserum in Kontakt gehalten, gespült, dann auf 1 Stunde in frisches defibriniertes Kaninchenblut gebracht (d. h. also auf viel längere Zeit als bei meinen Versuchen das Fibrin während der Defibrination im Blute verblieb) und hierauf in der gewöhnlichen Weise gespült worden ist, offenbart keine reaktivierende Wirkung für das erhitzte Antimilzbrandserum.

D. Das wirksame Fibrin gibt, wie schon erwähnt wurde, in kurzer Zeit eine große Menge Komplement an die Sera und die NaCl-Lösung, in welcher es digeriert wird, ab.

Wie ließen sich wohl diese Tatsachen mit der Annahme vereinbaren, daß das Fibrin eine große Affinität für das Komplement habe, kraft deren dieses letztere in ganz kurzer Zeit in großer Menge dem Serum entzogen wird? Sie tun vielmehr dar, daß das im Fibrin vorhandene Komplement sich äußerst leicht von ihm entbindet, und führen, wenigstens vorläufig, viel logischer zu folgendem Schlusse: In dem Fibrin, das man aus dem Blute einiger Tiere enthält, ist in großer Menge eine Substanz vorhanden, die mit dem in deren Serum enthaltenen Komplement identifizierbar und zu den spezifischen Ambozeptoren des Antimilzbrandserums vom Esel zu passen scheint, welche Substanz dem Fibrin selbst angehört und sich wahrscheinlich mit ihm bildet.

Ich sprach bisher vom Antimilzbrandserum, eben weil ich mich mit diesem am meisten beschäftigt habe; doch muß ich bemerken, daß ähnliches auch bei anderen Sera beobachtet wird (s. Tabelle G).

Tabelle G.
Einsaat = 16 500 Kolonien.

	Nach 3 Std. Kolonien
1) 0,5 ccm normales Eselserum	47
2) 0,5 ccm 1 Stunde lang auf 58° erhitztes normales Eselserum	8 703 ¹⁾
3) Serum wie bei 2, aber mit Kaninchenfibrin behandelt	79
4) 0,5 ccm 1 Stunde lang auf 55° erhitztes normales Rinder Serum	16 271
5) Serum wie bei 4, aber mit Kaninchenfibrin behandelt	212
6) 0,5 ccm 30 Minuten lang auf 63° erhitztes normales Kaninchenserum	∞
7) Serum wie bei 6, aber mit Kaninchenfibrin behandelt	1 841

So werden Rinder- und Hammelserum, die eine große Anzahl zum Milzbrandbacillus passender Ambozeptoren, aber kein Alexin enthalten, das sich mit diesen zu verankern vermag (weshalb diese Sera in vitro keine bakterizide Wirkung gegen jenen Keim haben), sowohl im frischen Zustande als erhitzt stark bakterizid nach Behandlung mit Fibrin vom Kaninchen, dessen Serum jene Sera zu komplettieren vermag. Ebenso werden Kaninchen- und normales Eselserum — die beide in bedeutendem Grade bakterizid für den Milzbrandbacillus sind — wenn sie durch Hitze inaktiv gemacht worden, durch die Wirkung des Kaninchenfibrins in gleicher Weise wieder bakterizid wie nach Zusatz von frischem Kaninchenserum. Und ein ähnliches Resultat erhält man beim erhitzten normalen Eselserum durch Pferdefibrin.

Da das Komplement, von dem oben die Rede war, aus dem Fibrin zu stammen scheint, ist die Frage ganz natürlich, in welchem seiner Bestandteile es eigentlich entsteht. Denn der Name Fibrin, mit welchem man das bezeichnet, was man durch die Defibrination aus dem Blute zieht, bedeutet keine genau bestimmte einheitliche Substanz, sondern eine Masse, die zwar wesentlich aus Fibrin besteht, aber, und auch nachdem sie gehörig gespült worden, außer Spuren von anderen Proteinstoffen und Salzen, auch rote Blutkörperchen, Leukocyten und eine außerordentlich große Anzahl Blutplättchen enthält.

Was die roten Blutkörperchen betrifft, so ist es klar, daß sie hier keine Rolle spielen können; das Serum, das aus dem defibrinierten Blute gezogen wird, also aus einem Material, das an Erythrocyten viel reicher ist als das Fibrin, ist, wie ich schon sagte, weniger aktiv als das Fibrin oder das wässrige Extrakt aus demselben. Betreffs der anderen Bestandteile dagegen lassen die von mir ausgeführten Untersuchungen noch kein sicheres Urteil zu, sondern gestatten nur einige Hypothesen aufzustellen. Die Hypothese, die sich sofort aufdrängt, ist die, daß die Entstehung unseres Komplementes in den in den Maschen des Fibrins steckengebliebenen Leukocyten zu suchen sei, und zwar besonders in den vielkernigen Leukocyten, die, nach Metschnikoff, die Erzeuger des bakteriziden Alexins (Mikrocytase) sind. Durch einen direkten Versuch wollte ich feststellen, inwieweit diese Hypothese den Tatsachen entspricht. Ich nahm deshalb von einem und demselben Kaninchen durch Koagulation bereitetes Serum, durch Zentrifugation gewonnenes Serum, (ganz trockenes) Fibrin, rotes Knochenmark (vom Femur) und ein Stückchen Lymphdrüse — diese letzteren zwei Materialien ganz fein zerschnitten — und prüfte diese Materialien, von allen gleiche Gewichtsmengen verwendend, in der gewöhnlichen Weise auf ihre reak-

1) Die Kolonien sind alle sehr groß.

tivierende Kraft dem erhitzten Antimilzbrandserum gegenüber. Die erhaltenen Resultate tun dar, daß bezüglich der Wirksamkeit in absteigender Reihe die genannten Substanzen, wie nachstehend angegeben, aufeinanderfolgen: Fibrin, gewöhnliches Serum, Knochenmark, durch Zentrifugation gewonnenes Serum, Lymphdrüse; und diese letztere erwies sich wirklich als ganz inaktiv.

Abgesehen von der Lymphdrüse, die zur Kontrolle gebraucht wurde und die sich gemäß der Metschnikoffschen Behauptung als ganz unwirksam erwies, ist die Tatsache merkwürdig, daß das Knochenmark, das an vielkernigen Leukocyten viel reicher ist als das Fibrin, sich weniger wirksam zeigte als dieses und das Serum. Allerdings wird, nach Metschnikoff, die Kinase nur dann von den Leukocyten entbunden, wenn diese verändert sind; da er aber annimmt, daß diese erforderliche Veränderung schon stattfindet, wenn man z. B. Blut in ein Gefäß auffängt und es hier gerinnen läßt, und also in unserem Falle die Defibrination des Blutes ebenfalls hierzu genügen dürfte, scheint es wenig wahrscheinlich, daß sich derartige Veränderungen nicht dadurch bewirken lassen sollen, daß man das Mark aus dem Knochen entfernt, es fein zerschneidet und es zuletzt in einer etwas Serum enthaltenden Epruvette tüchtig schüttelt. Ein weiterer Einwand gegen die Hypothese, daß das im Fibrin enthaltene Komplement von den Leukocyten herrührt, ist von der schon erwähnten Tatsache an die Hand gegeben, daß das defibrinierte Blut, mag man die Zentrifugation gleich nach dem Aderlaß oder erst einige Stunden später vornehmen, stets ein Serum von gleichem reaktivierenden Werte liefert. Denn da im defibrinierten Blute stets Leukocyten in beträchtlicher Anzahl zurückbleiben, die, nicht minder als die im Fibrin steckengebliebenen, einen starken mechanischen Insult erfahren haben, müßte, wenn die in Rede stehende Hypothese richtig wäre, das defibrinierte Blut von Stunde zu Stunde — wenigstens eine Zeitlang — komplementreicheres Serum geben, eben weil der Zerfall der weißen Blutkörperchen von Stunde zu Stunde fortschreitet, wenn man nicht etwa annimmt, daß die im Blute gebliebenen Leukocyten widerstandsfähiger seien als die im Fibrin steckengebliebenen — eine Annahme, die sich schwerlich begründen lassen dürfte — oder daß die Leukocyten gleich in den ersten Augenblicken der Defibrination alles Komplement frei lassen. Aber diese letztere Annahme wird außer durch die Erwägung, daß, wenn die Sache sich wirklich so verhält, zu erwarten wäre, daß das Fibrin bei der reich-

Tabelle H.
Einsaat = 30 143 Kolonien.

	Nach 3 Std. bei 35° Kolonien
1) 0,5 ccm 1 Stunde lang auf 58° erhitztes Antimilzbrandserum	23 082
2) 0,5 ccm Serum wie bei 1, das 3 Stunden lang mit Kaninchenfibrin behandelt wurde	772
3) 0,5 ccm Serum wie bei 1, das 3 Stunden lang mit dem bei No. 2 gebrauchten Kaninchenfibrin behandelt wurde	129
4) 0,5 ccm Serum wie bei 1, das 18 Stunden lang mit dem bei No. 3 gebrauchten Kaninchenfibrin behandelt wurde	95
5) 0,5 ccm Serum wie bei 1, das 3 Stunden lang mit dem bei No. 4 gebrauchten Kaninchenfibrin behandelt wurde	136
6) 0,5 ccm Serum wie bei 1, das 3 Stunden lang mit einer anderen Portion des bei den vorigen Versuchen gebrauchten Fibrins behandelt wurde	763
7) 0,5 ccm NaCl-Lösung, die 3 Stunden lang mit dem bei No. 6 gebrauchten Fibrin behandelt wurde	26 488

38*

lichen Spülung, der man es unterwirft, alles oder fast alles Alexin von sich gebe, auch durch die Tatsache zurückgewiesen, daß, wenn man, wie bei dem in Tabelle H dargestellten Experiment, eine und dieselbe Fibrinflocke mit verschiedenen Fraktionen von durch Hitze inaktiviertem Antimilzbrandserum behandelt, sie vor jeder neuen Behandlung durch Filtrierpapier trocknend, die reaktivierende Kraft des Fibrins mehrere Stunden lang bedeutend zunimmt, was bedeutet, daß dieses mit dem Altern komplementreicher wird.

NB. Die Einsaat wurde gleichzeitig vorgenommen. Die Versuche No. 6 und 7 dienten zur Kontrolle; sie tun dar, daß die Resultate, die ich aus dem durch mehrere Serumproben hindurchgegangenen Fibrin erhielt, nicht etwa darauf zurückzuführen sind, daß es mit beim ersten Durchgang reaktiviertem Antimilzbrandserum durchtränkt worden und dieses dann in den Sera No. 3, 4, 5 zum Teile von sich gegeben und so die Reaktivierung derselben simuliert habe. Denn das vom Versuch No. 6 herrührende Fibrin, statt in Antimilzbrandserum, in eine NaCl-Lösung versetzt, hat dieser keine bakterizide Kraft verliehen.

Aus den angegebenen Gründen, die, wie einleuchtet, die gleiche Geltung hätten, falls man das in Rede stehende Alexin für ein Sekretionsprodukt der Leukocyten halten wollte, bleibt man also etwas zweifelhaft der Anschauung gegenüber, daß das im Fibrin enthaltene Komplement von den Leukocyten herkomme. Dagegen scheint mir die Annahme, daß es von einem anderen, viel reichlicheren Bestandteile des Fibrins herrühre, nämlich von den Blutplättchen, viele Wahrscheinlichkeitsgründe für sich zu haben. Denn beachtet man die große Labilität dieser Elemente und deren Eigenschaft, die beim Schlagen des Blutes sich bildenden Fibrinfäden zu adhären, was in solchem Maße geschieht, daß nach der Defibrination das Blut fast vollständig der Blutplättchen beraubt ist, so dürften sich die hervorragendsten Dinge, die wir beobachteten, nämlich der reiche Komplementgehalt des Fibrins, die leicht erfolgende Abspaltung des Komplements vom Fibrin und auch das Vorhandensein einer bedeutenden Menge des Komplements im defibrierten Blute, leicht erklären lassen, letzteres, weil eben beim Schlagen die so hinfälligen Blutplättchen zum Teil sogleich zerfallen und das Komplement frei geben werden, noch ehe sie in die Fibrinmasse gelangen und mit dieser dem Blute selbst entzogen werden. Ebenso dürfte sich die vorhin erwähnte Tatsache erklären lassen, daß das defibrierte Blut, mag man die Zentrifugation gleich nach dem Aderlaß oder erst einige Stunden später vornehmen, stets ein gleichwertiges reaktivierendes Serum liefert; denn sobald das Fibrin und mit ihm fast alle noch nicht zerfallenen Blutplättchen entzogen sind, könnte Bildung von weiteren merklichen Komplementmengen nicht mehr stattfinden¹⁾.

Doch um festzustellen, welches der wirkliche Ursprung des im Fibrin

1) Man könnte einwenden, daß, da nach einigen Forschern die Blutplättchen aus dem Zerfall der roten Blutkörperchen hervorgehen, im defibrierten Blute, wenigstens eine Zeitlang, neue Blutplättchen entstehen müßten und somit auch im Gegensatze zu dem, was meine Untersuchungen festgestellt haben, der Komplementgehalt zunehmen müßte; aber dieser Einwendung ist — wenigstens vor der Hand — keine Bedeutung beizumessen, denn die Hypothese der Entstehung der Blutplättchen aus den roten Blutkörperchen ist bisher durch keinen entscheidenden Beweisgrund erhärtet worden (s. Sacerdotti, *Sulle piastrine del sangue dei mammiferi*. [Arch. per le sc. mediche. 1901. p. 483]).

enthaltenen Komplements ist und festzustellen, welche Rolle in dieser Frage die Blutplättchen spielen, gedenke ich weitere Experimente vorzunehmen, bei denen ich auch studieren will, ob mit dem Fibrin die Bildung von Antikomplementen möglich ist und ob in ihm, außer dem Komplement, das zu den in einigen Sera enthaltenen spezifischen Ambozeptoren für den Milzbrand gut paßt, auch Komplemente von anderer Natur vorhanden sind. Ich möchte jedoch gleich bemerken, daß Versuche, die betreffs der dem Kaninchenserum normalerweise eigenen bakteriziden Kraft für den Choleravibrio, und andere, die an einem, ebenfalls vom Kaninchen erhaltenen, für die roten Blutkörperchen vom Rinde hämolytischen Serum vorgenommen wurden, dargetan haben, daß in diesen Fällen das Kaninchenfibrin — wenigstens in den angewendeten Dosen und in der zur Digestion gelassenen Zeitspanne — solche durch die Hitze inaktivierte und durch normales Kaninchenserum reaktivierbare Sera nicht zu reaktivieren vermag. Die Versuche müssen also unter variierten Experimentbedingungen wiederholt und auf andere bakterizide Sera und andere Hämolsine ausgedehnt werden.

Nachdruck verboten.

Die Bedeutung der Agglutination zur Diagnose der pathogenen und saprophytischen Streptokokken.

[Aus dem Institute zur Erforschung der Infektionskrankheiten in Bern.
(Direktor: Prof. Tavel.)]

Von **H. Fischer.**

(Schluß.)

Neufeld teilte in der Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIV. p. 161 mit, daß es ihm gelungen sei, direkt mit lebenden Streptokokken, welche auf Agar gewachsen waren, schneller zum Ziele zu kommen. Ich habe daraufhin mit Streptokokken des Erysipels und Puerperalfiebers Versuche gemacht und kann die Angaben Neufelds nur bestätigen.

Zu diesem Zwecke wurden Kaninchen zunächst 0,25 ccm abgetöteter Bouillonkultur subkutan injiziert. Nach 10 Tagen begann ich dann mit lebenden Streptokokken, welche durch die Ohrvenen direkt in die Blutbahn gespritzt wurden. Ich verwandte dazu 24 Stunden alte Agarkulturen, welche mit 0,81 Proz. NaCl-Lösung abgeschwemmt worden waren und zwar so, daß auf 1 qcm 1 ccm Kochsalzlösung kam. Um ein gleichmäßiges Wachstum und dadurch eine möglichst genaue Dosierung zu erzielen, wurde nur das Kondenswasser geimpft und mit letzterem nach 12-stündigem Wachstum die Agarfläche gleichmäßig befeuchtet.

Ich begann mit 0,001 ccm und stieg ziemlich schnell, indem ich die Dosis stets verdoppelte. Die Tiere hatten zunächst geringen Gewichtsverlust ohne Temperaturerhöhung; späterhin traten Temperaturerhöhungen ein, die bei Puerperalfieber einige Tage anhielten. Das Allgemeinbefinden der Tiere war natürlich dementsprechend, doch erholten sie sich schon nach 4—5 Tagen und konnte dann die doppelte Dosis wie vorher injiziert werden. Die lästigen Nebenerscheinungen, wie Infiltrationen und Abscesse, blieben hier ganz aus, weil bei dieser Art der Immunisierung

nur die Bakterienleiber injiziert wurden, während, wie ich bereits oben erwähnte, bei der Einverleibung von Bouillonkulturen neben den Streptokokken auch die von diesen im Nährsubstrat gebildeten Giftstoffe mit in den Tierkörper gelangten. Von 36 in Behandlung genommenen Tieren gingen 25 frühzeitig ein, was einem Verhältnis von 70 v. H. entspricht; demnach mir nur 30 Proz. zu meinen Versuchen erübrigten.

In den folgenden Tabellen habe ich die Kaninchen mit den Zahlen I—VIII bezeichnet und dementsprechend später in analoger Weise die betreffenden Sera.

Es wurden behandelt:

Kaninchen	I	mit	Str. F	(Erysipel)
"	II	"	"	S (Scarlatina)
"	III	"	"	Q (Puerperalfieber)
"	IV	"	"	K (Marmorek)
"	V	"	"	H (Absceß)
"	VI	"	"	G (Faeces)
"	VII	"	"	D (Mund-Streptococcus)
"	VIII	"	"	V (Vaccine)

No. I, II, IV, V, VI, VII, VIII wurden mit abgetöteten Bouillonkulturen subkutan injiziert, während No. III intravenöse Injektionen lebender Agarabschwemmungen erhielt, die in der oben angegebenen Weise hergestellt worden waren.

Der Agglutinationstiter der erhaltenen Sera war für die homologen Streptokokken folgender:

Serum	I	1:300
"	II	1:500
"	III	1:300
"	IV	1:300
"	V	1:300
"	VI	1:200
"	VII	1:500
"	VIII	1:300

IV. Agglutination.

Wie ich bereits vorhin ausgeführt habe, war das Wachstum der Streptokokken in Bouillon ein sehr verschiedenes. Die Verwendung von Bouillon zu Agglutinationszwecken war daher bei einer solchen Anzahl verschiedenartiger Stämme ausgeschlossen. Es gelang mir auch nicht, wie es von mehreren Autoren vorgeschlagen worden ist, durch verschiedene Zusätze, wie Zucker, Normalpferdeserum, Ascitesflüssigkeit, bei allen Stämmen ein Wachstum mit gleichmäßiger Trübung zu erzielen.

Ich halte die Agglutinationsversuche in Bouillon auch aus einem anderen Grunde nicht immer für einwandfrei und stütze mich bei dieser Behauptung auf eine Beobachtung, die ich bei 4 Streptokokkenstämmen machte. Es waren dies die Stämme C, P, Q und V. Während C, P und Q nach 24 Stunden eine gleichmäßige Trübung der Bouillon bewirkten, bildete V einen dicken Bodensatz; wenn man jedoch diesen Bodensatz schüttelte, so blieb die Bouillon mehr als 24 Stunden gleichmäßig getrübt, so daß dieselbe zu Agglutinationszwecken hätte benutzt werden können. Bei C und P trat in Bouillonkulturen mit keinem einzigen Serum eine Agglutination ein, während Q nur durch Serum VIII, V nur durch Serum VI agglutiniert wurden. An und für sich würde

an dieser Tatsache nichts Auffallendes gewesen sein, da auch bei *Streptococcus E* und *U* mit keinem einzigen Serum Agglutination eintrat. Es fiel mir aber auf, daß das Serum III seinen homologen *Streptococcus Q* und ebenso Serum VIII den homologen Stamm *V* in Bouillonkultur nicht agglutiniert, während die beiden Sera mit anderen Streptokokken in Agaraufschwemmungen einen Agglutinationstiter von 1 : 300 bzw. 1 : 1000 zeigten. Als es mir dann später gelang, mit den vorhin erwähnten 4 Stämmen nach einer weiter unten zu beschreibenden Methode gleichmäßige Aufschwemmungen in Kochsalzlösung darzustellen, zeigte sich, daß alle 4 Streptokokken von den meisten Seris mehr oder minder agglutiniert wurden. Ich führe diese Erscheinung auf den verschiedenen osmotischen Druck zurück, der in beiden Flüssigkeiten vorhanden ist, wie dies Wassermann in seiner Arbeit „Agglutinine und Präzipitine“ angibt. Ich ließ daher die Versuche in Bouillon völlig fallen und versuchte homogene Emulsionen von Agarkulturen mittels 0,81-proz. Kochsalzlösung herzustellen. Außer den oben erwähnten Stämmen *C*, *Q*, *P* und *V* gaben die übrigen 17 gleichmäßige Emulsionen, die innerhalb 24 Stunden kein Depot bildeten, wenn man 12–15 Stunden alte Agarkulturen mit 0,81-proz. Kochsalzlösung abschwemmte. Dagegen setzten sich bei *C*, *P*, *Q* und *V*, wenn sie in gleicher Weise behandelt wurden, die Bakterienleiber bald zu Boden und waren daher die Aufschwemmungen in dieser Form zu Agglutinationszwecken nicht verwendbar. Ich versuchte ferner den entstandenen Bodensatz wie auch Agarkulturen, welche ich mittels Platinspatel ablöste, im Achatmörser zu zerreiben, erhielt aber auf diese Weise Emulsionen, die nur einige Stunden lang gleichmäßig getrübt blieben. Etwas besser war die Methode, wonach mit wenig Wasser abgeschwemmte Agarkulturen mittels Glasperlen in einem Erlenmeyerschen Kolben $\frac{1}{4}$ – $\frac{1}{2}$ Stunde geschüttelt wurden; jedoch auch hier bildete sich bei *V* nach mehreren Stunden ein Depot, so daß eine eintretende Agglutination makroskopisch schwer zu erkennen war. Eine in jeder Hinsicht befriedigende gleichmäßige Emulsion erhielt ich auf folgende Weise: Junge (12–15 Stunden alte) Serumbouillonkulturen wurden 1 Stunde lang zentrifugiert. Der gebildete Bodensatz wurde, nachdem die darüberstehende Bouillon abgegossen worden war, mit Kochsalzlösung ausgewaschen und diese Mischung nochmals 1 Stunde lang zentrifugiert. Schüttelte man nun die ausgeschleuderten Bakterien nach Entfernung der darüberstehenden Flüssigkeit nochmals mit Kochsalzlösung, so erhielt ich eine gleichmäßige Emulsion, die nach 24 Stunden keinen Bodensatz zeigte. Eine mikroskopische Untersuchung dieser Flüssigkeit ergab, daß die Glieder der Ketten sich gelöst hatten und waren kurze Ketten nur noch ganz vereinzelt zu beobachten. Auffallend war, daß die nach dem Zentrifugieren überstehende Bouillon wie auch die nach dem zweiten Zentrifugieren überstehende Kochsalzlösung immer noch stark getrübt waren, ohne daß ich im mikroskopischen Präparate eine nennenswerte Menge von Streptokokken hätte finden können. Diese Trübung ist bedingt durch Albumosen, die durch von den Streptokokken gebildete Säure aus der alkalischen Bouillon ausgefällt werden.

Nachdem es mir nunmehr gelungen war, mittels Kochsalzlösung für sämtliche 21 Stämme gleichmäßige Emulsionen, die mindestens innerhalb 24 Stunden kein Depot bildeten, herzustellen, konnte ich zu den eigentlichen Agglutinationsversuchen schreiten. Dieselben wurden in der Weise ausgeführt, daß 0,9 ccm Emulsion in ca. 1 cm breite Röhrchen

mittels steriler Pipette eingefüllt und hierzu 0,1 ccm Serum bzw. Serumverdünnung geschickt wurde. Das Serum selbst wurde ebenfalls mittels Kochsalzlösung verdünnt, und zwar wurden folgende Verdünnungen hergestellt:

1	Serum	+	1	Kochsalzlösung	=	1 : 2
1	"	+	4	"	=	1 : 5
1	"	+	6,5	"	=	1 : 7,5
1	"	+	9	"	=	1 : 10
1	"	+	19	"	=	1 : 20
1	"	+	29	"	=	1 : 30
1	"	+	49	"	=	1 : 50
1	"	+	99	"	=	1 : 100

Wenn ich also von diesen Verdünnungen 0,1 ccm zu 0,9 Emulsion setzte, so erhielt ich die Verdünnungen 1 : 20, 1 : 50, 1 : 75, 1 : 100, 1 : 200, 1 : 300, 1 : 500, 1 : 1000.

Diese Verdünnungen wurden dann in den Brutschrank gestellt und nach 1, 2, 4, 6, 8, 10 und 20 Stunden beobachtet.

In ganz seltenen Fällen war vor Verlauf von 1 Stunde eine Agglutination zu sehen; vielmehr trat das Phänomen gewöhnlich nach 1 bis 2 Stunden auf und war größtenteils nach 6—7 Stunden vollendet, so daß ich in den nachstehenden Tabellen die Beobachtungen nach 2, 4, 6 und 8 Stunden angeführt habe und nur bei denjenigen Streptokokken, wo noch später größere Veränderungen sich einstellten, dies besonders bemerkt habe.

Bei Beginn der Agglutination sah man zunächst in der vorher homogenen Emulsion kleine Klümpchen auftreten, die anfangs mit bloßem Auge schwer, jedoch mittels Lupe bereits deutlich zu erkennen waren. Nach einiger Zeit waren die Klümpchen immer größer geworden, so daß man dieselben nunmehr mit bloßem Auge deutlich erkennen konnte. Sie blieben zunächst durch das ganze Medium suspendiert, so daß die Flüssigkeit noch gleichmäßig getrübt war. Es war aber bereits ein deutlicher Unterschied zwischen dieser und der Kontrollflüssigkeit zu erkennen. Dieses Stadium der Agglutination habe ich in den nachfolgenden Tabellen mit + bezeichnet.

Nach und nach senkten sich die Klümpchen zu Boden, bis schließlich die darüberstehende Flüssigkeit vollständig klar war. Es war nun selbst durch kräftiges Schütteln nicht mehr möglich, eine homogene Flüssigkeit, wie es die Kontrolle noch war, herzustellen, vielmehr blieben auch beim Schütteln die Klümpchen zusammen und senkten sich bald wieder zu Boden. Dieses Stadium war eine vollständige Agglutination, welches ich mit +++ bezeichnet habe. Wenn die Bakterienleiber sich zu verhältnismäßig großen Klümpchen zusammenballten, sich aber nicht vollständig zu Boden senkten, so daß nur eine teilweise Klärung der Flüssigkeit eintrat, also immer noch eine sehr deutliche Agglutination zu beobachten war, so habe ich dies mit ++ bezeichnet.

Zweifelhafte Fälle von Agglutination habe ich mit + bemerkt. Bei eintretender Agglutination hätte man nun annehmen müssen, daß dieselbe bei den schwächsten Verdünnungen stets zuerst und am stärksten aufgetreten sei. Dies war aber nicht immer der Fall. Vielmehr zeigte sich, daß bei verschiedenen Seris in größeren Verdünnungen eine stärkere Agglutination eintrat; bei den schwächeren Verdünnungen stellt sich die Agglutination erst später und in einem Falle nur unvollkommen ein. Ueber diese Hemmungserscheinungen haben Eisenberg und Volk

Streptococcus A. (Angina).

Verdünnung		1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:300	1:500	1:1000
Serum I	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. F	" " 4 "	+	+	—	—	—	—	—	—
Erysipel	" " 6 "	+	+	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	+	+	—	—	—	—	—	—
Serum II	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. S	" " 4 "	+	—	—	—	—	—	—	—
Scarlatina	" " 6 "	+	+	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	+	+	—	—	—	—	—	—
Serum III	Agglutin. nach 2 Stdn.	+	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. Q	" " 4 "	+	+	—	—	—	—	—	—
Puerperalfieb.	" " 6 "	++	++	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	++	++	—	—	—	—	—	—
Serum IV	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. K	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Marmorek	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum V	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. H	" " 4 "	+	+	+	—	—	—	—	—
Absceß	" " 6 "	++	++	++	+	+	+	—	—
	" " 8 "	++	++	++	++	+	+	—	—
Serum VI	Agglutin. nach 2 Stdn.	+	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. G	" " 4 "	+	+	—	—	—	—	—	—
Faeces	" " 6 "	++	+	+	—	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	+	+	+	—	—	—	—
Serum VII	Agglutin. nach 2 Stdn.	+	+	—	—	—	—	—	—
= Strept. D	" " 4 "	++	+	—	—	—	—	—	—
Mundstreptoc.	" " 6 "	+++	++	++	+	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	+++	++	++	—	—	—	—
Serum VIII	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	+	+	+	—	—	—	—
= Strept. V	" " 4 "	—	+++	+++	+++	+	+	—	—
Vaccine	" " 6 "	+++	+++	+++	+++	+	+	—	—
	" " 8 "	+++	+++	+++	+++	+	+	—	—

Streptococcus B (Angina).

Serum I	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. F	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Erysipel	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum II	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. S	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Scarlatina	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum III	Agglutin. nach 2 Stdn.	+	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. Q	" " 4 "	+	—	—	—	—	—	—	—
Puerperalfieb.	" " 6 "	++	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	++	—	—	—	—	—	—	—
Serum IV	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. K	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Marmorek	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum V	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. H	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Absceß	" " 6 "	+	+	+	—	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	—

Verdünnung			1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:300	1:500	1:1000
Serum VI	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. G	" " 4 "	+	—	—	—	—	—	—	—	—
Faeces	" " 6 "	+	+	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	+	+	+	+	—	—	—	—	—
Serum VII	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. D	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Mundstreptoc.	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum VIII	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	+	+	—	—	—	—	—
= Strept. V	" " 4 "	+	++	++	++	—	—	—	—	—
Vaccine	" " 6 "	+	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—
	" " 8 "	+	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—

Streptococcus C. (Angina).

Serum I	Agglutin. nach 2 Stdn.	++	++	++	++	+	—	—	—
= Strept. F	" " 4 "	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
Erysipel	" " 6 "	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
	" " 8 "	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
Serum II	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. S	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Scarlatina	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	+	—	—	—	—	—	—	—
Serum III	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. Q	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Puerperalfieb.	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum IV	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. K	" " 4 "	+	—	—	—	—	—	—	—
Marmorek	" " 6 "	+++	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	++	—	—	—	—	—	—
Serum V	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. H	" " 4 "	+	+	+	+	—	—	—	—
Absceß	" " 6 "	+++	+++	+++	+++	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	+++	+++	+++	—	—	—	—
Serum VI	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. G	" " 4 "	++	+	—	—	—	—	—	—
Faeces	" " 6 "	+++	++	+	—	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	+++	++	+	—	—	—	—
Serum VII	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. D	" " 4 "	+	+	—	—	—	—	—	—
Mundstreptoc.	" " 6 "	+++	+++	++	+	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	+++	+++	++	—	—	—	—
Serum VIII	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. V	" " 4 "	+++	+	—	—	—	—	—	—
Vaccine	" " 6 "	+++	+	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	+	—	—	—	—	—	—

Streptococcus D. (Mundstreptokokken).

Serum I	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. F	" " 4 "	+	+	+	—	—	—	—	—
Erysipel	" " 6 "	++	++	++	—	—	—	—	—
	" " 8 "	++	++	++	—	—	—	—	—
Serum II	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. S	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Scarlatina	" " 6 "	+	+	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	++	++	+	+	+	—	—	—

Verdünnung			1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:300	1:500	1:1000
Serum III = Strept. Q Puerperalfieb.	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	+	—	—	—	—	—	—	—
	" "	4 "	++	—	—	—	—	—	—	—
	" "	6 "	++	—	—	—	—	—	—	—
	" "	8 "	++	—	—	—	—	—	—	—
Serum IV = Strept. K Marmorek	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	8 "	++	+	—	—	—	—	—	—
Serum V = Strept. H Absceß	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	8 "	+	+	+	+	—	—	—	—
Serum VI = Strept. G Faeces	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	6 "	+	+	—	—	—	—	—	—
	" "	8 "	+	+	+	+	+	—	—	—
Serum VII = Strept. D Mundstreptoc.	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	+++	+++	+++	+++	+	+	+	—
	" "	4 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—
	" "	6 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—
	" "	8 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—
Serum VIII = Strept. V Vaccine	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	+++	++	++	++	+	—	—	—
	" "	4 "	+++	+++	+++	+++	+	+	—	—
	" "	6 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
	" "	8 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—

Streptococcus E (Empyem).

Serum I = Strept. F Erysipel	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	20 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum II = Strept. S Scarlatina	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum III = Strept. Q Puerperalfieb.	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	20 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum IV = Strept. K Marmorek	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	20 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum V = Strept. H Absceß	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	20 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum VI = Strept. G Faeces	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	20 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum VII = Strept. D Mundstreptoc.	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	20 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum VIII = Strept. V Vaccine	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" "	20 "	—	—	—	—	—	—	—	—

Streptococcus F (Erysipel).

Verdünnung		1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:300	1:500	1:1000
Serum I	Agglutin. nach 2 Stdn.	+	+	+	+	—	—	—	—
= Strept. F	" " 4 "	++++	++++	++	++	+	—	—	—
Erysipel	" " 6 "	++++	++++	++	++	+	+	—	—
	" " 8 "	++++	++++	++++	++++	++++	+	—	—
Serum II	Agglutin. nach 2 Stdn.	++	+	+	—	—	—	—	—
= Strept. S	" " 4 "	++++	++	+	—	—	—	—	—
Scarlatina	" " 6 "	++++	++++	++	+	+	+	—	—
	" " 8 "	++++	++++	++++	++	+	+	+	—
Serum III	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. Q	" " 4 "	++	+	+	—	—	—	—	—
Puerperalfieb.	" " 6 "	++++	++	+	+	—	—	—	—
	" " 8 "	++++	++++	+	+	—	—	—	—
Serum IV	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. K	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Marmorek	" " 6 "	+	+	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	+++	+	—	—	—	—	—
Serum V	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. H	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Absceß	" " 6 "	+	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	+	++	++	++++	++++	++++	++++	—
Serum VI	Agglutin. nach 2 Stdn.	+	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. G	" " 4 "	++	+	+	+	—	—	—	—
Faeces	" " 6 "	++++	++	+	+	—	—	—	—
	" " 8 "	++++	++++	++	+	—	—	—	—
Serum VII	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. D	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Mundstreptoc.	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum VIII	Agglutin. nach 2 Stdn.	+	+	+	+	—	—	—	—
= Strept. V	" " 4 "	++++	++++	++++	++++	+	—	—	—
Vaccine	" " 6 "	++++	++++	++++	++++	++++	+	—	—
	" " 8 "	++++	++++	++++	++++	++++	+	—	—

Streptococcus G (Faeces).

Serum I	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. F	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Erysipel	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum II	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. S	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Scarlatina	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum III	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. Q	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Puerperalfieb.	" " 6 "	++	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	++	—	—	—	—	—	—	—
Serum IV	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. K	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Marmorek	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum V	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. H	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Absceß	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—

Verdünnung		1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:300	1:500	1:1000
Serum VI = Strept. G Faeces	Agglutin. nach 2 Stdn.	++	++	++	+	—	—	—	—
	" " 4 "	+++	+++	+++	++	—	—	—	—
	" " 6 "	+++	+++	+++	+++	++	—	—	—
	" " 8 "	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	—
Serum VII = Strept. D Mundstreptoc.	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum VIII = Strept. V Vaccine	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—

Streptococcus H (Abscess).

Serum I = Strept. F Erysipel	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum II = Strept. S Scarlatina	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum III = Strept. Q Puerperalfieb.	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	+	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "	+++	+	+	—	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	+	+	—	—	—	—	—
Serum IV = Strept. K Marmorek	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum V = Strept. H Abscess	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	++	++	+	—	—	—	—	—
	" " 6 "	+++	++	++	+	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	+++	+++	+++	++	++	+	—
Serum VI = Strept. G Faeces	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum VII = Strept. D Mundstreptoc.	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum VIII = Strept. V Vaccine	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—

Streptococcus I (Sputum).

Serum I = Strept. F Erysipel	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "	+	+	+	—	—	—	—	—
	" " 8 "	+	+	+	—	—	—	—	—
Serum II = Strept. S Scarlatina	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	++	++	+	—	—	—	—	—
	" " 6 "	++	++	+	+	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	+++	++	++	+	+	—	—

Verdünnung			1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:300	1:500	1:1000
Serum III	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	+	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. Q	" "	4 "	++	+	—	—	—	—	—	—
Puerperalfieb.	" "	6 "	+++	++	++	+	—	—	—	—
" "	" "	8 "	+++	+++	++	+	—	—	—	—
Serum IV	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. K	" "	4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Marmorek	" "	6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
" "	" "	8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum V	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. H	" "	4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Abscess	" "	6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
" "	" "	8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum VI	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. G	" "	4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Faeces	" "	6 "	+	+	—	—	—	—	—	—
" "	" "	8 "	++	++	+	+	—	—	—	—
Serum VII	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. D	" "	4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Mundstreptoc.	" "	6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
" "	" "	8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum VIII	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. V	" "	4 "	—	+	+	+	—	—	—	—
Vaccine	" "	6 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
" "	" "	8 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—

Streptococcus K (Marmorek).

Serum I	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. F	" "	4 "	++	++	++	—	—	—	—	—
Erysipel	" "	6 "	+++	+++	+++	+++	+	+	—	—
" "	" "	8 "	+++	+++	+++	+++	+	+	—	—
Serum II	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. S	" "	4 "	+	—	—	—	—	—	—	—
Scarlatina	" "	6 "	++	+	—	—	—	—	—	—
" "	" "	8 "	+++	+++	++	—	—	—	—	—
Serum III	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	++	++	+	+	—	—	—	—
= Strept. Q	" "	4 "	+++	++	+	+	—	—	—	—
Puerperalfieb.	" "	6 "	+++	+++	++	++	—	—	—	—
" "	" "	8 "	+++	+++	++	++	—	—	—	—
Serum IV	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	+	+	+	—	—	—	—	—
= Strept. K	" "	4 "	++	+	+	+	—	—	—	—
Marmorek	" "	6 "	++	++	++	+	—	—	—	—
" "	" "	8 "	+++	+++	+++	++	+	+	—	—
Serum V	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. H	" "	4 "	++	++	+	+	—	—	—	—
Abscess	" "	6 "	+++	+++	++	++	—	—	—	—
" "	" "	8 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—
Serum VI	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	+	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. G	" "	4 "	+++	+	+	—	—	—	—	—
Faeces	" "	6 "	+++	++	+	+	—	—	—	—
" "	" "	8 "	+++	++	+	+	—	—	—	—
Serum VII	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	++	+	+	—	—	—	—	—
= Strept. D	" "	4 "	+++	+++	+	+	—	—	—	—
Mundstreptoc.	" "	6 "	+++	+++	+++	++	—	—	—	—
" "	" "	8 "	+++	+++	+++	++	—	—	—	—
Serum VIII	Agglutin. nach 2 Stdn.	2	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—
= Strept. V	" "	4 "	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
Vaccine	" "	6 "	+++	+++	+++	+++	+++	++	—	—
" "	" "	8 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—

Streptococcus L (Mastitis).

Verdünnung			1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:300	1:500	1:1000
Serum I = Strept. F Erysipel	Agglutin. nach 2 Stdn.		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "		++	+	+	—	—	—	—	—
	" " 6 "		+++	++	++	++	±	—	—	—
	" " 8 "		++++	++	++	++	+	—	—	—
Serum II = Strept. S Scarlatina	Agglutin. nach 2 Stdn.		+	+	+	+	±	—	—	—
	" " 4 "		++	+	+	+	+	—	—	—
	" " 6 "		++	++	+	+	+	—	—	—
	" " 8 "		+++	++	++	++	++	++	+	—
Serum III = Strept. Q Puerperalfieb.	Agglutin. nach 2 Stdn.		++	+	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "		++	++	+	+	—	—	—	—
	" " 6 "		+++	+++	++	++	++	+	—	—
	" " 8 "		+++	+++	++	++	++	+	—	—
Serum IV = Strept. K Marmorek	Agglutin. nach 2 Stdn.		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "		+	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "		++	+	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "		++	++	++	+	+	+	+	—
Serum V = Strept. H Absceß	Agglutin. nach 2 Stdn.		+	+	+	+	—	—	—	—
	" " 4 "		++	++	++	++	+	+	±	—
	" " 6 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
	" " 8 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
Serum VI = Strept. G Faeces	Agglutin. nach 2 Stdn.		++	++	+	+	—	—	—	—
	" " 4 "		+++	+++	++	++	±	—	—	—
	" " 6 "		+++	+++	+++	+++	+	—	—	—
	" " 8 "		+++	+++	+++	+++	++	—	—	—
Serum VII = Strept. D Mundstreptoc.	Agglutin. nach 2 Stdn.		++	+	+	—	—	—	—	—
	" " 4 "		+++	+++	++	+	—	—	—	—
	" " 6 "		+++	+++	+++	++	+	—	—	—
	" " 8 "		+++	+++	+++	++	+	—	—	—
Serum VIII = Strept. V Vaccine	Agglutin. nach 2 Stdn.		+++	+++	+++	+++	++	+	±	—
	" " 4 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
	" " 6 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
	" " 8 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Streptococcus M (Nabeleiterung).

Serum I = Strept. F Erysipel	Agglutin. nach 2 Stdn.		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "		—	—	—	—	—	—	—	—
Serum II = Strept. S Scarlatina	Agglutin. nach 2 Stdn.		+	+	+	+	—	—	—	—
	" " 4 "		++	+	+	+	—	—	—	—
	" " 6 "		++	++	+	+	+	+	—	—
	" " 8 "		+++	++	++	++	++	++	+	—
Serum III = Strept. Q Puerperalfieb.	Agglutin. nach 2 Stdn.		++	++	+	—	—	—	—	—
	" " 4 "		++	++	++	+	—	—	—	—
	" " 6 "		+++	+++	+++	++	+	+	—	—
	" " 8 "		+++	+++	+++	+++	+	+	—	—
Serum IV = Strept. K ₁ Marmorek	Agglutin. nach 2 Stdn.		+	+	+	+	—	—	—	—
	" " 4 "		++	+	+	+	—	—	—	—
	" " 6 "		+++	++	+	+	+	+	—	—
	" " 8 "		+++	++	++	++	+	+	—	—
Serum V = Strept. H Absceß	Agglutin. nach 2 Stdn.		+	+	+	+	—	—	—	—
	" " 4 "		++	++	++	++	+	+	—	—
	" " 6 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
	" " 8 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—

Verdünnung			1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:300	1:500	1:1000
Serum VI	Agglutin. nach 2 Stdn.		++	+	+	—	—	—	—	—
= Strept. G	" " 4 "		+++	++	+	+	—	—	—	—
Faeces	" " 6 "		+++	++	++	+	—	—	—	—
	" " 8 "		+++	+++	++	++	—	—	—	—
Serum VII	Agglutin. nach 2 Stdn.		++	+	+	—	—	—	—	—
= Strept. D	" " 4 "		++	++	++	+	—	—	—	—
Mundstreptoc.	" " 6 "		++	++	++	+	—	—	—	—
	" " 8 "		++	++	++	+	—	—	—	—
Serum VIII	Agglutin. nach 2 Stdn.		++	++	++	+	—	—	—	—
= Strept. V	" " 4 "		+++	+++	+++	+++	++	++	—	—
Vaccine	" " 6 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—
	" " 8 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—

Streptococcus N (Oberschenkelabsceß).

Serum I	Agglutin. nach 2 Stdn.		—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. F	" " 4 "		+++	+++	+++	++	++	+	—	—
Erysipel	" " 6 "		+++	+++	+++	++	++	+	—	—
	" " 8 "		+++	+++	+++	++	++	+	—	—
Serum II	Agglutin. nach 2 Stdn.		—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. S	" " 4 "		—	—	—	—	—	—	—	—
Scarlatina	" " 6 "		+	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "		+++	++	++	++	+	+	+	—
Serum III	Agglutin. nach 2 Stdn.		++	+	+	—	—	—	—	—
= Strept. Q	" " 4 "		++	++	++	+	—	—	—	—
Puerperalfieb.	" " 6 "		+++	+++	+++	++	—	—	—	—
	" " 8 "		+++	+++	+++	++	—	—	—	—
Serum IV	Agglutin. nach 2 Stdn.		+	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. K	" " 4 "		+	+	—	—	—	—	—	—
Marmorek.	" " 6 "		++	+	+	+	—	—	—	—
	" " 8 "		+++	++	++	++	+	—	—	—
Serum V	Agglutin. nach 2 Stdn.		+	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. H	" " 4 "		+	+	+	+	+	—	—	—
Absceß	" " 6 "		++	++	++	++	++	+	+	—
	" " 8 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++
Serum VI	Agglutin. nach 2 Stdn.		+	+	—	—	—	—	—	—
= Strept. G	" " 4 "		++	++	+	+	+	—	—	—
Faeces	" " 6 "		+++	+++	++	+	+	—	—	—
	" " 8 "		+++	+++	+++	+++	+	+	—	—
Serum VII	Agglutin. nach 2 Stdn.		++	++	+	—	—	—	—	—
= Strept. D	" " 4 "		+++	+++	++	++	++	—	—	—
Mundstreptoc.	" " 6 "		+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
	" " 8 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
Serum VIII	Agglutin. nach 2 Stdn.		+++	+++	+++	+++	+	—	—	—
= Strept. V	" " 4 "		+++	+++	+++	+++	++	++	+	—
Vaccine	" " 6 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
	" " 8 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—

Streptococcus O (Peritonitis).

Serum I	Agglutin. nach 2 Stdn.		—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. F	" " 4 "		++	++	++	++	+	+	—	—
Erysipel	" " 6 "		++	++	++	++	++	++	—	—
	" " 8 "		++	++	++	++	++	++	—	—
Serum II	Agglutin. nach 2 Stdn.		—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. S	" " 4 "		—	—	—	—	—	—	—	—
Scarlatina	" " 6 "		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "		—	—	—	—	—	—	—	—

Verdünnung		1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:300	1:500	1:1000
Serum III = Strept. Q Puerperal- fieber	Agglutin. nach 2 Stdn.	++	+	+	—	—	—	—	—
	" " 4 "	++	++	+	+	—	—	—	—
	" " 6 "	+++	++	++	+	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	+++	++	+	—	—	—	—
Serum IV = Strept. K Marmorek	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum V = Strept. H Absceß	Agglutin. nach 2 Stdn.	++	++	+	+	+	+	—	—
	" " 4 "	+++	+++	++	++	++	++	+	—
	" " 6 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
	" " 8 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
Serum VI = Strept. G Faeces	Agglutin. nach 2 Stdn.	+	+	+	—	—	—	—	—
	" " 4 "	++	++	++	+	+	—	—	—
	" " 6 "	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
	" " 8 "	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+
Serum VII = Strept. D Mundstreptoc.	Agglutin. nach 2 Stdn.	++	+	+	+	—	—	—	—
	" " 4 "	+++	+++	+++	++	+	—	—	—
	" " 6 "	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
	" " 8 "	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	—
Serum VIII = Strept. V Vaccine	Agglutin. nach 2 Stdn.	+++	+++	+++	+++	+	+	—	—
	" " 4 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
	" " 6 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
	" " 8 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

Streptococcus P (Puerperalexsudat).

Serum I = Strept. F Erysipel	Agglutin. nach 2 Stdn.	+	+++	+++	+++	—	—	—	—
	" " 4 "	++	+++	+++	+++	+	+	—	—
	" " 6 "	+++	+++	+++	+++	++	++	+	—
	" " 8 "	+++	+++	+++	+++	++	++	+	—
Serum II = Strept. S Scarlatina	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	+	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "	+++	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	—	—	—	—	—	—	—
Serum III = Strept. Q Puerperal- fieber	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum IV = Strept. K Marmorek	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	+	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "	+++	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	+++	+	—	—	—	—	—
Serum V = Strept. H Absceß	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	++	++	+	—	—	—	—	—
	" " 6 "	+++	+++	++	+	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—
Serum VI = Strept. G Faeces	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	++	+	+	—	—	—	—	—
	" " 6 "	+++	++	++	++	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	+++	+++	+++	—	—	—	—
Serum VII = Strept. D Mundstreptoc.	Agglutin. nach 2 Stdn.	++	+	+	+	—	—	—	—
	" " 4 "	++	++	++	++	—	—	—	—
	" " 6 "	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—
	" " 8 "	+++	+++	+++	+++	+	—	—	—
Serum VIII = Strept. V Vaccine	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	++	+	+	—	—	—	—

Streptococcus Q (Puerperalfieber).

Verdünnung		1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:300	1:500	1:1000
Serum I	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. F	" " 4 "	++	++	—	—	—	—	—	—
Erysipel	" " 8 "	+++	++	+	+	—	—	—	—
"	" " 20 "	+++	+++	+	+	—	—	—	—
Serum II	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. S	" " 4 "	+	—	—	—	—	—	—	—
Scarlatina	" " 8 "	+++	++	++	+	—	—	—	—
"	" " 20 "	+++	++	++	+	+	+	—	—
Serum III	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. Q	" " 4 "	+	—	—	—	—	—	—	—
Puerperalfieb.	" " 8 "	++	++	++	+	—	—	—	—
"	" " 20 "	+++	+++	+++	+++	++	++	+	—
Serum IV	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. K	" " 4 "	+	—	—	—	—	—	—	—
Marmorek	" " 8 "	+++	++	++	+	—	—	—	—
"	" " 20 "	+++	+++	++	++	++	+	—	—
Serum V	Agglutin. nach 2 Stdn.	+	+	+	—	—	—	—	—
= Strept. H	" " 4 "	+++	+++	+++	++	+	—	—	—
Absceß	" " 8 "	+++	+++	+++	+++	+	+	—	—
"	" " 20 "	+++	+++	+++	+++	++	+	—	—
Serum VI	Agglutin. nach 2 Stdn.	+	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. G	" " 4 "	++	++	++	+	—	—	—	—
Faeces	" " 8 "	+++	+++	+++	++	+	+	—	—
"	" " 20 "	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	—
Serum VII	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. D	" " 4 "	++	—	—	—	—	—	—	—
Mundstreptoc.	" " 8 "	+++	+++	++	—	—	—	—	—
"	" " 20 "	+++	+++	++	++	++	+	—	—
Serum VIII	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. V	" " 4 "	++	++	++	++	+	—	—	—
Vaccine	" " 8 "	+++	+++	+++	++	++	++	++	—
"	" " 20 "	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+

Streptococcus R (Punktionseiter).

Serum I	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. F	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Erysipel	" " 6 "	++	++	++	+	+	—	—	—
"	" " 8 "	+++	++	++	+	+	—	—	—
Serum II	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. S	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Scarlatina	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
"	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum III	Agglutin. nach 2 Stdn.	+	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. Q	" " 4 "	+	+	+	—	—	—	—	—
Puerperalfieb.	" " 6 "	++	++	++	++	+	+	—	—
"	" " 8 "	++	++	++	++	+	+	—	—
Serum IV	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. K	" " 4 "	+	—	—	—	—	—	—	—
Marmorek	" " 6 "	+	—	—	—	—	—	—	—
"	" " 8 "	++	—	—	—	—	—	—	—
Serum V	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. H	" " 4 "	+	+	+	+	++	++	+	—
Absceß	" " 6 "	+	+	+	+	+++	+++	+	—
"	" " 8 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—

Verdünnung			1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:300	1:500	1:1000
Serum VI = Strept. G Faeces	Agglutin. nach 2 Stdn.		+	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "		+++	++	++	+	±	—	—	—
	" " 6 "		+++	++	++	+	+	—	—	—
	" " 8 "		+++	+++	++	+	+	±	—	—
Serum VII = Strept. D Mundstreptoc.	Agglutin. nach 2 Stdn.		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "		+	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "		++	+	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "		++	+	—	—	—	—	—	—
Serum VIII = Strept. V. Vaccine	Agglutin. nach 2 Stdn.		+++	+++	+++	+++	+	+	—	—
	" " 4 "		+++	+++	+++	+++	++	++	+	+
	" " 6 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+
	" " 8 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++

Streptococcus S (Scarlatina).

Serum I = Strept. F Erysipel	Agglutin. nach 2 Stdn.		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "		+	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "		+	—	—	—	—	—	—	—
Serum II = Strept. S Scarlatina	Agglutin. nach 2 Stdn.		+++	+++	++	++	++	+	+	—
	" " 4 "		+++	+++	++	++	++	++	++	—
	" " 6 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	—
	" " 8 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
Serum III = Strept. Q Puerperalfieb.	Agglutin. nach 2 Stdn.		++	+	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "		++	+	±	—	—	—	—	—
	" " 6 "		+++	++	+	—	—	—	—	—
	" " 8 "		+++	++	+	—	—	—	—	—
Serum IV = Strept. K Marmorek	Agglutin. nach 2 Stdn.		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "		+	+	—	—	—	—	—	—
Serum V = Strept. H Absceß	Agglutin. nach 2 Stdn.		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "		+	+	—	—	—	—	—	—
Serum VI = Strept. G. Faeces	Agglutin. nach 2 Stdn.		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "		+	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "		+++	++	+	+	+	+	—	—
Serum VII = Strept. D Mundstreptoc.	Agglutin. nach 2 Stdn.		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "		—	—	—	—	—	—	—	—
Serum VIII = Strept. V Vaccine	Agglutin. nach 2 Stdn.		+	+++	++	+	—	—	—	—
	" " 4 "		+++	+++	+++	++	+	+	+	—
	" " 6 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—
	" " 8 "		+++	+++	+++	+++	+++	+++	+	—

Streptococcus T (Scarlatina-Angina).

Serum I = Strept. F Erysipel	Agglutin. nach 2 Stdn.		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "		—	—	—	—	—	—	—	—
Serum II = Strept. S Scarlatina	Agglutin. nach 2 Stdn.		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "		—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "		—	—	—	—	—	—	—	—

Verdünnung		1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:300	1:500	1:1000
Serum III	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. Q	" " 4 "	++	—	—	—	—	—	—	—
Puerperalfieb.	" " 6 "	+++	++	+	+	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	++	+	+	—	—	—	—
Serum IV	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. K	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Marmorek	" " 6 "	+	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	++	+	—	—	—	—	—	—
Serum V	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. H	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Absceß	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum VI	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. G	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Faeces	" " 4 "	+	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	++	+	+	+	—	—	—	—
Serum VII	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. D	" " 4 "	++	—	—	—	—	—	—	—
Mundstreptoc.	" " 6 "	++	+	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	++	+	—	—	—	—	—	—
Serum VIII	Agglutin. nach 2 Stdn.	+	++	+	+	—	—	—	—
= Strept. V	" " 4 "	+++	++++	+++	++	+	+	—	—
Vaccine	" " 6 "	+++	++++	+++	+++	+++	+	+	—
	" " 8 "	+++	++++	+++	+++	+++	+	+	+

Streptococcus U (Urin).

Serum I	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. F	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Erysipel	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 20 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum II	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. S.	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Scarlatina	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 20 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum III	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. Q	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Puerperalfieb.	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 20 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum IV	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. K.	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Marmorek	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 20 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum V	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. H	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Absceß	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 20 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum VI	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. G	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Faeces	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 20 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum VII	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. D	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Mundstreptoc.	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 20 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Serum VIII	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
= Strept. V	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
Vaccine	" " 6 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 20 "	—	—	—	—	—	—	—	—

Streptococcus V (Vaccine).

Verdünnung		1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:300	1:500	1:1000
Serum I = Strept. F Erysipel	Agglutin. nach 2 Stdn.	+++	++	++	++	—	—	—	—
	" " 4 "	+++	+++	+++	++	—	—	—	—
	" " 6 "	+++	+++	+++	++	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	+++	+++	++	—	—	—	—
Serum II = Strept. S Scarlatina	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "	+	—	—	—	—	—	—	—
	" " 8 "	++	+	—	—	—	—	—	—
Serum III = Strept. Q Puerperalfieb.	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 6 "	+	—	—	—	—	—	—	—
	" " 17 "	+++	+++	+++	+++	+++	+++	—	—
Serum IV = Strept. K Marmorek	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	++	++	+	—	—	—	—	—
	" " 6 "	+++	+++	++	++	+	—	—	—
	" " 8 "	+++	+++	++	++	+	—	—	—
Serum V = Strept. H Absceß	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	+++	+	+	—	—	—	—	—
	" " 6 "	+++	+++	++	+	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	+++	++	+	—	—	—	—
Serum VI = Strept. G Faeces	Agglutin. nach 2 Stdn.	—	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	++	++	+	+	—	—	—	—
	" " 6 "	+++	+++	+++	+++	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	+++	+++	+++	—	—	—	—
Serum VII = Strept. D Mundstreptoc.	Agglutin. nach 2 Stdn.	+++	—	—	—	—	—	—	—
	" " 4 "	+++	++	+	—	—	—	—	—
	" " 6 "	+++	+++	++	+	—	—	—	—
	" " 8 "	+++	+++	+++	+++	—	—	—	—
Serum VIII = Strept. V Vaccine	Agglutin. nach 2 Stdn.	+++	+++	+	+	—	—	—	—
	" " 4 "	+++	+++	+++	++	+	—	—	—
	" " 6 "	+++	+++	+++	+++	+	+	—	—
	" " 8 "	+++	+++	+++	+++	++	++	—	—

in der Wien. klin. Wochenschr. 1901. No. 50 und Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL sowie Volk und de Waele in der Abhandlung „Ueber Hemmungserscheinungen bei frischen Immunseris“ ausführlich berichtet und habe ich die von diesen Autoren gefundene Tatsache bei meinen Versuchen bestätigen können.

Ferner stellte ich Versuche an, ob und wie weit Normalkaninchen-serum die von mir benutzten Streptokokken agglutinierte. Ich verwandte dazu zwei verschiedene Sera. Das Resultat dieser Versuche war, daß in keinem Falle eine Agglutination eintrat. Ich komme jetzt zu der Frage, inwieweit läßt sich die Agglutination zur Diagnose der pathogenen und saprophytischen Streptokokken verwenden? Zur Beantwortung dieser Frage sollen die vorstehenden Tabellen dienen, welche die Agglutinationen eines jeden Stammes mit den verschiedenen Seris zeigen.

In Tabelle p. 458 habe ich die verschiedenen Sera nebeneinander gestellt und unter jedem Serum sämtliche Stämme angeführt, wodurch man eine Uebersicht erhält, welche Stämme von ein und demselben Serum agglutiniert wurden und bei welchen eine Agglutination nicht eintrat.

Streptococcus	Agglut. nach	Serum I (Erysipel)						Serum II (Scarlatina)									
		1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:300	1:500	1:1000	1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:300	1:500	1:1000
A (Angina)	8 Std.	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
B "	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
C "	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
D (Mundstreptococcus)	20 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
E (Empyem)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
F (Erysipel)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
G (Faeces)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
H (Absceß)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
I (Sputum)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
K (Marmorek)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
L (Mastitis)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
M (Nabeleiterung)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
N (Oberschenkelabsceß)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
O (Peritonitis)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
P (Puerperalexsudat)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
Q (Puerperalfieber)	20 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
R (Punktionseiter)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
S (Scarlatina)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
T (Scarlatina-Angina)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
U (Urin)	20 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
V (Vaccine)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	—
Serum III (Puerperalfieber)																	
A (Angina)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
B "	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
C "	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
D (Mundstreptococcus)	20 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
E (Empyem)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
F (Erysipel)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
G (Faeces)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
H (Absceß)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
I (Sputum)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
K (Marmorek)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
L (Mastitis)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
M (Nabeleiterung)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
N (Oberschenkelabsceß)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
O (Peritonitis)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
P (Puerperalexsudat)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
Q (Puerperalfieber)	20 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
R (Punktionseiter)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
S (Scarlatina)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
T (Scarlatina-Angina)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
U (Urin)	20 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
V (Vaccine)	17 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
Serum IV (Marmorek)																	
A (Angina)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
B "	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
C "	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
D (Mundstreptococcus)	20 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
E (Empyem)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
F (Erysipel)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
G (Faeces)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
H (Absceß)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
I (Sputum)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
K (Marmorek)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
L (Mastitis)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
M (Nabeleiterung)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
N (Oberschenkelabsceß)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
O (Peritonitis)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
P (Puerperalexsudat)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
Q (Puerperalfieber)	20 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
R (Punktionseiter)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
S (Scarlatina)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
T (Scarlatina-Angina)	8 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
U (Urin)	20 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—
V (Vaccine)	17 "	+	+	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	—

1) Serum IV 8 Stunden.

Streptococcus	Agglut. nach	Serum V (Absceß)										Serum VI (Faeces)									
		1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:300	1:500	1:1000	1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:300	1:500	1:1000	1:20	1:50	1:75	1:100
A (Angina)	8 Std.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B "	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C "	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D (Mundstreptococcus)	20 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E (Empyem)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F (Erysipel)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G (Faeces)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H (Absceß)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I (Sputum)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
J (Mastitis)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K (Marmorek)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L (Mastitis)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M (Nabelentzündung)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
N (Oberschenkelabsceß)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
O (Peritonitis)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
P (Puerperalexsudat)	20 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Q (Puerperalfieber)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R (Punktonseiter)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S (Scarlatina)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
T (Scarlatina-Angina)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
U (Urin)	20 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V (Vaccine)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
		Serum VII (Mundstreptococcus)										Serum VIII (Vaccine)									
		1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:300	1:500	1:1000	1:20	1:50	1:75	1:100	1:200	1:300	1:500	1:1000	1:20	1:50	1:75	1:100
A (Angina)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
B "	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
C "	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D (Mundstreptococcus)	20 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
E (Empyem)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
F (Erysipel)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
G (Faeces)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
H (Absceß)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
I (Sputum)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
J (Mastitis)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
K (Marmorek)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L (Mastitis)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
M (Nabelentzündung)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
N (Oberschenkelabsceß)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
O (Peritonitis)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
P (Puerperalexsudat)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Q (Puerperalfieber)	20 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
R (Punktonseiter)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
S (Scarlatina)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
T (Scarlatina-Angina)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
U (Urin)	8 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
V (Vaccine)	20 "	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Aus den vorhergehenden Tabellen ergibt sich, daß die Sera, welche mit den Streptokokken des Erysipels, Scarlatina, Puerperalfiebers und dem *Streptococcus Marmorek* hergestellt wurden, eine geringere Anzahl Stämme agglutinieren, als die Sera, welche mit den übrigen Streptokokken gewonnen wurden.

Im Anfange dieser Arbeit habe ich bei der Morphologie die Streptokokken nach ihrem mikroskopischen Aussehen klassifiziert und unter Ia und Ib diejenigen zusammengefaßt, welche Kokken oder Diplokokken, wenig Ketten von 5—7 Gliedern, bilden. Hierher gehören die Streptokokken D (Mund-*Streptococcus*), E (Empyem), G (Faeces), H (Absceß), U (Urin), V (Vaccine).

Den Seris V, VI, VII und VIII entsprechen nun die Stämme H (Absceß), G (Faeces), D (Mund-*Streptococcus*), V (Vaccine), folglich sämtlich der Klasse I angehörend.

Den Seris I, II, III und IV entsprechen die Stämme F (Erysipel), S (Scarlatina), Q (Puerperalfieber), K (*Streptococcus Marmorek*). Nach der morphologischen Beschreibung gehören diese Stämme zu den Streptokokken mit langen Ketten bzw. mit Ketten von mindestens 5—8 Gliedern.

Es tritt also ein gewisser Unterschied zwischen den nahe verwandten Arten auch bei der Agglutination zu Tage. So wird z. B. *Streptococcus D* (Mund-*Streptococcus*) von dem homologen Serum bis 1:500 agglutiniert. Serum VIII, hergestellt mit dem ebenfalls kurz-kettigen *Streptococcus V* (Vaccine), agglutiniert *Streptococcus D* bis 1:300, während alle übrigen Sera nur ganz schwache Agglutination hervorrufen.

Streptococcus A wird von den Seris I—IV gar nicht oder nur ganz schwach agglutiniert; dagegen treten bei den Seris V—VIII wiederum starke Agglutinationen auf.

Streptococcus B und R werden gleichfalls von den Seris I—IV schwach bzw. gar nicht agglutiniert, während die Sera V und VIII starke Agglutinationen hervorrufen.

Bei den übrigen Stämmen ist eine Gesetzmäßigkeit in Bezug auf Agglutination nicht festzustellen, vielmehr finden sich solche, bei denen abwechselnd Agglutination eintritt mit dem einen oder anderen Serum von kurz-kettigen und von langkettigen Streptokokken.

Die Resultate meiner Versuche glaube ich zusammenfassen zu können in folgenden

Schlußfolgerungen:

1) Ein monovalentes Streptokokkenserum, welches mittels Streptokokken, die nicht durch Tierpassage verändert worden sind, hergestellt wurde, agglutiniert stets den homologen Stamm.

2) Ein solches Serum ist nicht im stande, sämtliche Streptokokken zu agglutinieren.

3) Heterologe, nahe verwandte Stämme werden von diesem Serum gleichfalls stark, bisweilen höher als der homologe Stamm agglutiniert.

4) Bei der Agglutination treten graduelle Unterschiede auf, je nachdem die Stämme mehr oder weniger verwandt sind.

5) Eine Diagnose der saprophytischen und pathogenen Streptokokken läßt sich durch die Agglutination nicht stellen.

6) Das sehr verschiedene Verhalten der einzelnen Streptokokken-sera gegenüber den heterologen Stämmen ist ein weiterer Beweis dafür, daß eine große Multiplizität der Streptokokkenstämme existiert.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, Herrn Prof. Tavel wie auch seinem Assistenten Herrn Dr. Heller, Chef der Pasteurabteilung, für die freundlichen Anregungen und für das Interesse, mit dem dieselben meiner Arbeit folgten, an dieser Stelle meinen besten Dank auszusprechen.

Literatur.

- 1) Van der Velde, De la nécessité d'un sérum antistreptococcique polyvalent pour combattre les streptococques chez le lapin. (Arch. de méd. expér. et d'anat. pathol. 1897. No. 4.)
- 2) v. Lingelsheim, Aetiologie und Therapie der Streptokokkeninfektion. (Behrings Beitr. z. exper. Therapie. 1899. Heft 1.)
- 3) Meyer, Die Agglutination der Streptokokken. (Dtsche med. Wochenschr. 1902. No. 42.)
- 4) Neufeldt, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIV. p. 161.
- 5) Aronson, Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 42.
- 6) Marmorek, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1895. p. 593.
- 7) — —, Die Arteinheit der für den Menschen pathogenen Streptokokken. (Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 14.)
- 8) Besaude, Le phénomène de l'agglutination des microbes. Paris (Carré) 1897.
- 9) Wlassjewski, Ueber Streptokokkenagglutination. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIII. No. 15/16.)
- 10) Moser et Pirquet, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIV. No. 6.
- 11) Wassermann, Ueber Agglutinine und Präzipitine. (Zeitschr. f. Hyg. 1903.)
- 12) Eisenberg u. Volk, Wien. klin. Wochenschr. 1901. No. 50. Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL.
- 13) Volk u. de Waele, Ueber Hemmungserscheinungen bei frischen Immunseris.
- 14) Tavel, Experimentelles und Klinisches über das polyvalente Antistreptokokken-serum. (Dtsche med. Wochenschr. 1903. No. 50/51.)

Nachdruck verboten.

Ueber den Bacillus prodigosus und die Theorien von der natürlichen Immunität.

[Hygienisches Institut der Kgl. Universität Turin.]

Von Dr. E. Bertarelli, Privatdozent.

Im Jahre 1903 habe ich im Centralblatt für Bakteriologie einige Beobachtungen veröffentlicht, aus denen sich verschiedene nicht unwichtige Tatsachen (bezüglich der Biologie des *B. prodigosus*) ableiten ließen. Die wichtigste dieser Beobachtungen betraf das toxische und septikämische Vermögen des *B. prodigosus*.

Mit einer Keimvarietät, die in allem die charakteristischen Eigenschaften des *B. prodigosus* besaß, gelang es mir tatsächlich, beim Meerschweinchen den Tod durch Septikämie zu erhalten, eine Tatsache, die sich außerdem bei verschiedenen anderen Stämmen von *B. prodigosus*, wenn auch hinsichtlich des inokulierten Kulturvolums in verschiedenem Maße, feststellen ließ. Ich hatte damals Gelegenheit, nachzuweisen, daß der *Prodigosus* hauptsächlich durch die Proteine seines Bakterienkörpers zur Einwirkung gelangt, so daß man den Tod des Tieres auch mit toten Kulturen erwirken konnte. Ich fügte dieser Bemerkung hinzu, daß man dann später eine aktive Vermehrung der Keime im Körper des inokulierten Meerschweinchens, sowie den daraufhin eintretenden Uebergang in den Kreislauf wahrnehmen konnte, und zwar derart, daß es in vielen Fällen nicht schwer fiel, in den letzten

Lebensmomenten und nach dem Tode den *B. prodigiosus*, der zuweilen auch bei 37° C deutlich pigmentiert wuchs, aus dem Herzen in Reinkultur zu isolieren.

Ueberdies behauptete ich noch, daß die Fähigkeit des Keimes, sich im Körper des Meerschweinchens zu vermehren und Septikämie zu erzeugen, nach der durch die bakterischen Proteine bewirkten Vergiftung, also sekundär eintrete, und bemerkte ebenfalls, daß relativ nicht sehr hohe Kulturdosen (1—2 ccm Kultur ins Peritoneum) im stande seien, diese Erscheinung zu stande zu bringen.

Der von mir erhaltene Befund wurde mir auch von anderen Forschern mündlich bestätigt; weiterhin findet sich in einer diesjährigen Arbeit von Lombardo-Pelegrino¹⁾ (aus dem Laboratorium des Prof. Sanfelice) die Bemerkung, daß L-P. Gelegenheit hatte, aus dem Boden einen *Prodigiosus* zu kultivieren, der sich dem Meerschweinchen gegenüber pathogen erwies und nach Isolierung aus dem Herzblut desselben Meerschweinchens das typisch rote Pigment sehen ließ.

Einige Angaben, die Kisskalt in seiner kürzlichen II. Arbeit über die Lehre von der natürlichen Immunität²⁾ gemacht hat, konnten deshalb nicht ohne Eindruck an mir vorübergehen. In einem der interessantesten Teile dieser Arbeit spricht K. von den pathogenen Keimen und versucht es, die Charakteristik dieser Keime festzustellen. Bei seinen Versuchen mit dem *B. subtilis* konnte er nachweisen, daß der in die vordere Kammer des Kaninchenauges eingeführte Heubacillus dort stark wächst und sich sehr rasch vermehrt. Der *B. prodigiosus* dagegen zeigt ein ganz anderes Verhalten. In die vordere Kammer des Kaninchenauges eingeführt, verschwindet er rasch, und die Glaskörpermasse erweist sich nach 24 Stunden steril.

Wird der *B. prodigiosus* im inaktivierten Kaninchenserum bei 37° im Ofen gezüchtet, so vermehrt er sich nicht und stirbt zuletzt fast vollständig, wird er dagegen in demselben inaktivierten Kaninchenserum kultiviert und auf 22° gehalten, so vermehren sich die Keime ziemlich stark, wenngleich sich zu Anfang ihrer Entwicklung einige Hindernisse entgegenstellen; nach 24 Stunden kann man sicher schon ca. 10mal mehr Keime zählen, als sich zu Beginn im Serum wahrnehmen ließen.

Aus alledem zieht Kisskalt den Schluß, daß die apathogenen Keime sich bezüglich der natürlichen Immunität in 2 Gruppen scheiden lassen: 1) in die absolut apathogene, wie der *Prodigiosus*, die im tierischen Organismus nicht zu wachsen und sich zu vermehren vermögen, sondern, wenn sie in großen Mengen eingeführt sind, höchstens durch ihre Proteine toxisch wirken; 2) in die den Typus des Heubacillus aufweisenden Keime, die sich im Organismus zu vermehren im stande sind, meist aber phagocytiert werden und somit unschädlich gemacht sind.

Da sich aber einer solchen Anschauung die von mir hinsichtlich des *B. prodigiosus* vorgebrachte Tatsache nicht gut anpassen ließe, bemerkt Kisskalt, daß der zu meinen Untersuchungen dienende *Prodigiosus* wahrscheinlich kein *Prodigiosus* war. Was K. zur Annahme veranlaßte, daß mein Keim kein *Prodigiosus* war, ist besonders die Tatsache, daß die Kulturmassen meines *Prodigiosus* zuweilen auch

1) Centralblatt f. Bakteriologie. I. Abt. Orig. Bd. XXXIV. 1903.

2) Lombardo-Pelegrino, Giornale della R. Società Ital. d'Igiene. 1904. Fasc. 1.

bei 80° nicht tot waren, wonach also der Gedanke aufsteigen konnte, daß man es hier mit einem sporifizierenden Keim zu tun hatte. Dieser Anschauung bin ich schon hinreichend in der Zeitschrift für Hygiene¹⁾ entgegengetreten, ich komme also nicht darauf zurück, sondern trete ohne weiteres in den den Forscher direkter interessierenden Teil ein.

Wie kann man nun die Anschauung Kisskalts (dessen Name, was Genauigkeit der Methode und Güte der Ideen anbetrifft, hinreichend bekannt ist) von den apathogenen Keimen in ihrer Beziehung zur natürlichen Immunität mit dem in Einklang bringen, was ich in dieser Hinsicht behauptet und andere bestätigt haben?

Vor allem habe ich da einige Proben mit demselben Keime wiederholt, der mir auch zu den ersten Versuchen diente. Erstere — und das besagt das Protokoll besser als alles andere — bestätigen im wesentlichen, was ich über den *Prodigiosus* veröffentlicht habe.

Der zu den Versuchen verwandte *B. prodigiosus* bietet absolut die Kennzeichen, die diesem Keime in den Lehrbüchern der Systematik zugeschrieben werden. Länger als ein Jahr hindurch war er nicht mehr durch Tierorganismen geführt worden; die Laboratoriumskulturen sind jetzt sowohl bei 37° wie auch bei 20° auf Glycerinagar apigmentiert.

Es wurden verschiedene Uebertragungen in Agar-Fleischbrühe präpariert und die Wirksamkeit am Meerschweinchen und Kaninchen erprobt.

Beim Kaninchen bewirken auch 3 ccm Bouillonkulturen ins Peritoneum keinen Tod. Ich ziehe nunmehr ausschließlich das Meerschweinchen als tatsächlich empfindlichstes Versuchstier zu nachfolgenden Versuchen heran und fasse hier alle, diese Inokulationen betreffenden Daten kurz zusammen:

I. Meerschweinchen. Gewicht 150 g. Am 13. Juli 1904. Injektion von 2 ccm 2-tägiger Bouillonkultur ins Peritoneum. Stirbt am 14. Juli 1904.

Positive Kulturen aus Herz und Milz; in ersterem ziemlich zahlreiche Kolonien; in letzterer unzählbare. Bei 37° leichte Rosapigmentation der Kolonien nach 30 Stunden; bei 25° (Temperatur des Raumes) deutliche rote Pigmentation in 3 Tagen.

II. Meerschweinchen. Gewicht 180 g. Am 15. Juli 1904 Injektion von 1,5 ccm 2-tägiger Bouillonkultur ins Peritoneum. Tod am 25. Juli 1904. Kulturen aus dem Herzen negativ.

III. Meerschweinchen. Gewicht 170 g. Am 15. Juli 1904 Injektion eines Fünftels 2-tägiger Agarkultur ins Peritoneum. Verendet am 16. Juli. Positive Kulturen aus Herz und Milz. Bei 37° nicht pigmentiert, bei 25° leichtes, rotes Pigment. Die Kolonien sind auch in den Herzblutkulturen zahlreich.

IV. Meerschweinchen. Gewicht 140 g. Am 16. Juli 1904 Injektion von 1 ccm 3-tägiger Fleischbrühekultur ins Peritoneum. Abgetötet bei 70°. Letaler Ausgang am 18. Juli 1904.

V. Meerschweinchen. Gewicht 200 g. Am 16. Juli 1904 Injektion von 1,5 ccm 3-tägiger Bouillonkultur ins Peritoneum. Tod des Tieres am 26. Juli. Aus dem Herzen erhält man nur einige sehr spärliche *Prodigiosus*-Kolonien.

1) Kisskalt, K., Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLVII. 1904. Heft 2.

2) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLVIII. Heft 1.

VI. Meerschweinchen. Gewicht 180 g. Idem idem mit bei 70° abgetöteter Kultur. Stirbt am 25. Juli.

VII. Meerschweinchen. Gewicht 170 g. Am 22. Juli 1904 Inokulation von 1 ccm 48-stündiger Bouillonkultur ins Peritoneum. Das Tier verendet am 23. Juli. Kulturen: Spärliche *Prodigiosus*-Kolonien aus dem Herzen, zahlreiche aus der Milz. Äußerst schwache Pigmentation bei 37°.

VIII. Meerschweinchen. Gewicht 200 g. Am 22. Juli 1904 Einführung von 2 ccm 48-stündiger Bouillonkultur ins Peritoneum. Tod am 23. Juli. Enorme Entwicklung von Kolonien aus Herz und Milz. Sehr schwache Pigmentation bei 37°.

IX. Meerschweinchen. Gewicht 220 g. Am 22. Juli 1904 Einführung von 2 ccm einer 2-tägigen, durch Hitze getöteten Fleischbrühhkultur ins Peritoneum. Verendet am 26. Juli.

X. Meerschweinchen. Gewicht 190 g. Am 22. Juli 1904 Injektion von 1 ccm 2-tägiger, durch Wärme getöteter Bouillonkultur ins Peritoneum. Letaler Ausgang am 24. Juli 1904.

XI. Meerschweinchen. Gewicht 270 g. Am 26. Juli 1904 Inokulation von 2 ccm 24-stündiger Bouillonkultur ins Peritoneum. Das Tier stirbt am 27. Juli. Aus dem Herzen wenige rot pigmentierte Kolonien bei 37°.

XII. Meerschweinchen. Gewicht 280 g. Idem idem von 1 ccm einer 24-stündigen Bouillonkultur. Stirbt am 29. Juli. Kulturen aus dem Herzen negativ.

XIII. Meerschweinchen. Gewicht 150 g. Idem von 2 ccm durch Hitze getöteter Bouillonkultur. Verendet am 27. Juli.

XIV. Meerschweinchen. Gewicht 150 g. Idem von 1 ccm durch Hitze getöteter Bouillonkultur. Verendet 27. Juli 1904.

XV. Meerschweinchen. Gewicht 240 g. Am 26. Juli 1904 Injektion eines Siebentels 48-stündiger Agarkultur. Tod am 27. Juli. Herzkulturen negativ.

XVI. Meerschweinchen. Gewicht 275 g. Am 26. Juli 1904 Inokulation von $\frac{2}{7}$ einer 48-stündigen Agarpatine ins Peritoneum. Auftreten einer diskreten Anzahl von Kolonien in den Herzkulturen. Tod am 28. Juli.

XVII. Meerschweinchen. Gewicht 290 g. Einführung von $\frac{1}{7}$ einer 48-stündigen, durch Hitze abgetöteten Kultur. Das Tier bleibt am Leben.

XVIII. Meerschweinchen. Gewicht 280 g. Idem $\frac{2}{7}$ einer 48-stündigen, durch Hitze abgetöteten Flächenkultur. Stirbt am 27. Juli.

Aus diesen Angaben kann man den Schluß ziehen, daß das, was ich über die Biologie des *B. prodigiosus* geschrieben habe, zu Recht besteht.

Dieser *Bacillus* kann seine Wirksamkeit bei starken Dosen (Dosen, die aber nicht sehr hoch erscheinen, wenn sie mit denjenigen verglichen werden, die zur Tötung desselben Tieres mit Laboratoriumskulturen pathogener Keime erforderlich sind) dadurch zum Ausdruck bringen, daß er zuerst das Meerschweinchen vergiftet und daraufhin eine auch sofort nach dem Tode nachweisbare Septikämie erzeugt.

Die abgetöteten Kulturen haben hinsichtlich der Intoxikation durch die Bakterienproteine ungefähr dieselbe Wirksamkeit. Die frischen Kulturen sind logischerweise weniger aktiv als die schon einige Tage alten.

Weniger regelmäßig beobachtet man die Tatsache, daß der aus dem Blute isolierte *Prodigiosus* sich auch bei 37° pigmentiert zeigt.

Es bleibt somit nachgewiesen, daß der *B. prodigiosus* ein saprophytischer Keim ist, von dem Stämme vorkommen, die, in großen Quantitäten ins Meerschweinchen injiziert, daselbst unzweifelhaft zu durch die bakterischen Proteine bedingten Vergiftungserscheinungen führen und dann weiterhin sekundär eine Septikämie hervorrufen können.

In der bereits zitierten Arbeit Kisskalts sind tatsächlich keine Versuchsdaten vorhanden, die sich mit diesen Beobachtungen in Widerspruch befänden. Dagegen sei es mir hier gestattet, meiner Meinung Ausdruck zu geben, die dahin geht, daß jene, die von mir beobachteten Tatsachen betreffenden und aus Kisskalts Studium über die natürliche Immunität ableitbaren Schlüsse besonders dann wenig überzeugend erscheinen, wenn man berücksichtigt, daß Kisskalt mit Kaninchenserum, nicht aber mit Meerschweinchenserum arbeitete, während doch gerade dieses Tier dem Keime gegenüber besonders empfindlich ist.

Ebenso will es mir nicht leicht erklärlich vorkommen, wie der *Prodigiosus* in inaktiviertem Kaninchenserum bei 37° nicht wachsen und sich vermehren kann, während er doch ebenda bei 22° gut gedeiht, und dies um so mehr, da wir wissen, daß der *B. prodigiosus* bei 37° auf den gewöhnlichen Nährböden gut fortkommt. Ausgeschlossen ist es jedoch nicht, daß im inaktivierten Serum bei 37° die Entwicklung hemmende Substanzen vorhanden sind, die bei 22° fehlen, mit alledem bleibt die Tatsache aber immer noch schwer verständlich.

Außerdem sei mir noch eine andere Bemerkung gestattet. Selbst den Fall angenommen, daß das inaktivierte Kaninchenserum bei 37° für den *Prodigiosus* ein ungünstiges Terrain darstellt, kann man dann schon aus diesem einzigen Grunde einen Schluß ziehen, der es ausschließt, daran zu denken, daß derselbe *Prodigiosus* in vivo (und unter den oben gegebenen Umständen) für das Meerschweinchen pathogen sein kann? Zu viele Beispiele absoluten Nichtübereinstimmens zwischen den Erscheinungen der bakterientötenden Wirksamkeit der Sera in vivo und in vitro sind uns bekannt, um aus einer in vitro beobachteten Erscheinung auf das schließen zu können, was in vivo vor sich geht. Im gegenwärtigen Falle ist mir daran gelegen, zu wiederholen, daß die von mir gemachten Beobachtungen, welche auch immer die Erfahrungen in vitro sein mögen, zu Recht bestehen.

Da aber die hemmende Einwirkung des Kaninchensерums auf den *B. prodigiosus* vor allem an die Stammvarietät des verwandten *Prodigiosus* selbst gebunden sein kann und da weiterhin diese Einwirkung beim Meerschweinchenserum grundverschieden sein kann, so habe ich die Kisskaltschen Proben wiederholt und sie auch mit aktiven Seris (d. h. bei 56° nicht inaktivierten) und Kaninchenseris ausgeführt.

Nachstehend die Daten meiner Versuche. 22. Juli 1904. In die vordere Augenkammer eines kräftigen Kaninchens wird mit einer feinen Nadel ein Tropfen einer *Prodigiosus*-Agarkulturemulsion (24 Stunden auf 37°) eingeträufelt; der Tropfen enthält nach den Probeplatten ungefähr 1200—1800 Keime. Nach 24 Stunden wird das Auge ausgeschält. Die Hornhaut ist trübe und undurchsichtig, die Iris hyperämisch, der Glaskörper trübe; auch die Bindehaut ist bedeutend entzündet.

Zuerst wird jetzt das Auge in steriler Lösung sorgfältig gewaschen, dann dringt man mit einer Oese in die Vorkammer ein, wonach Ausstriche auf Agarplatten hergestellt werden, die bei 22° verbleiben. Es

ergibt sich eine Entwicklung von 6—7 *Prodigosus*-Kolonieen auf 1 Oese des in der Vorkammer angesammelten Materials.

Demselben Verfahren wird ein anderes Kaninchen ausgesetzt, das Auge jedoch 48 Stunden später enukleiert. Das der Augenvorkammer entnommene Material ist steril.

Hierin bestätigt sich also die Beobachtung Kisskalts, weswegen die Prüfung der für jede Eventualität in Alkohol fixierten Stücke unterlassen wird.

Am 24. Juli Aderlaß an einem Kaninchen. Ein Teil des Serums wird $\frac{1}{2}$ Stunde lang bei 58° inaktiviert, daraufhin wird in Bouillon eine nicht zu reichliche Emulsion von *Prodigosus* — der 24 Stunden bei 37° gewachsen ist — präpariert.

Mit je 1 Oese werden 4 je 1 ccm Serum enthaltende Röhrchen infiziert. 2 von den Röhrchen enthalten inaktiviertes Serum. (Durch zweckmäßige Wahl der Platinaöse und vorhergehende Proben hat man besonders darauf Bedacht, in das Serum keine zu spärliche Anzahl von Keimen zu übertragen; im übrigen siehe die diesbezüglichen Daten.) Nunmehr werden mit dem Inhalte eines jeden Röhrchens sorgfältig je 2 Agarplatten angefertigt. Die Hälfte der Platten bleibt auf 22°, die andere auf 37°. Auch die Röhrchen werden zum Teil auf 37°, zum Teil auf 22° belassen. Nach 12—8—24 Stunden und 3 Tagen werden pro Röhrchen unter den gewöhnlichen Normen und Vorsichtsmaßregeln je 2 Platten präpariert und diese teils auf 22°, teils auf 37° belassen.

I. Kaninchen. Aktives Serum.

	Serum auf 37°		Serum auf 22°	
	Platten auf 37°	Platten auf 22°	Platten auf 37°	Platten auf 22°
Sofort	1080 Kolonieen	880 Kolonieen	920 Kolonieen	1200 Kolonieen
Nach 2 Stunden	210	128	240	1000
" 8 "	15	40	80	1400
" 24 "	3200	4000	zahllose	einige Taus.
" 3 Tagen	zahllose	zahllose	"	zahllose

Inaktiviertes Serum.

	Serum auf 37°		Serum auf 22°	
	Platten auf 37°	Platten auf 22°	Platten auf 37°	Platten auf 22°
Sofort	2000 Kolonieen	1100 Kolonieen	860 Kolonieen	1120 Kolonieen
Nach 2 Stunden	400	360	310	1200
" 8 "	620	880	4600	zahllose
" 24 "	2800	3100	zahllose	"
" 3 Tagen	zahllose	zahllose	"	"

Am 27. Juli Aderlaß eines andern Kaninchens, worauf man unter Beobachtung derselben Normen zu einer zweiten Probe schreitet.

II. Kaninchen. Aktives Serum.

	Serum auf 37°		Serum auf 22°	
	Platten auf 37°	Platten auf 22°	Platten auf 37°	Platten auf 22°
Sofort	2400 Kolonieen	1180 Kolonieen	2400 Kolonieen	3100 Kolonieen
Nach 2 Stunden	78	80	220	320
" 8 "	28	46	250	420
" 24 "	2100	1800	zahllose	zahllose
" 3 Tagen	zahllose	zahllose	"	"

Inaktiviertes Serum.

	Serum auf 37°		Serum auf 22°	
	Platten auf 37°	Platten auf 22°	Platten auf 37°	Platten auf 22°
Sofort	2410 Kolonieen	2870 Kolonieen	4000 Kolonieen	1800 Kolonieen
Nach 2 Stunden	2000	1060	1600	?
" 8 "	680	480	4800	einige Taus.
" 24 "	zahllose	zahllose	zahllose	zahllose
" 3 Tagen	"	"	"	"

Am 13. Juli wird in die Augenvorkammer eines starken Meerschweinchens (350 g) ein Tropfen einer *Prodigiosus*-Aufschwemmung (24 Stunden bei 37°) injiziert. Der Tropfen enthält ca. 800—1500 Keime laut Angabe der Kontrollplatten.

Nach 24 Stunden Enukleation. Hornhaut trübe. Iris hyperämisch. Glaskörper leukocytenreich. Bindehaut stark hyperämisch. Mit 2 Oesen werden Ausstriche auf 2 Agarplatten hergestellt. Entwicklung von 70—100 *Prodigiosus*-Kolonien.

In analoger Weise wird mit dem anderen Meerschweinchen vorgegangen. 48 Stunden nachher wird das Auge ausgeschält, wobei Hornhaut und Glaskörper trübe sind und die Iris stark hyperämisch. Daraufhin Ausstrichsaaten in derselben Weise. Entwicklung von 8 bis 24 *Prodigiosus*-Kolonien.

Am 12. Juli werden Bakterienabtötungsproben mit dem Serum verschiedener Meerschweinchen begonnen, worüber nachstehend ausführliche Daten folgen:

Meerschweinchen A. 12. Juli 1904. Aktives Serum.

	Serum auf 37°		Serum auf 22°	
	Platten auf 37°	Platten auf 22°	Platten auf 37°	Platten auf 22°
Sofort	3800 Kolonien	2000 Kolonien	1850 Kolonien	3520 Kolonien
Nach 2 Stunden	180 "	480 "	860 "	140 "
" 8 "	40 "	84 "	2800 "	4200 "
" 24 "	4060 "	3200 "	zahllose "	zahllose "
" 3 Tagen	zahllose "	zahllose "	" "	" "

Meerschweinchen B. 21. Juli 1904. Aktives Serum.

	Serum auf 37°		Serum auf 22°	
	Platten auf 37°	Platten auf 22°	Platten auf 37°	Platten auf 22°
Sofort	3100 Kolonien	2200 Kolonien	2480 Kolonien	4010 Kolonien
Nach 2 Stunden	180 "	250 "	2020 "	3860 "
" 8 "	460 "	820 "	einige Tausend "	einige Tausend "
" 24 "	zahllose "	zahllose "	zahllose "	zahllose "
" 3 Tagen	" "	" "	" "	" "

Inaktiviertes Serum.

	Serum auf 37°		Serum auf 22°	
	Platten auf 37°	Platten auf 22°	Platten auf 37°	Platten auf 22°
Sofort	2200 Kolonien	1800 Kolonien	2860 Kolonien	1700 Kolonien
Nach 2 Stunden	1800 "	1600 "	1760 "	2000 "
" 8 "	3200 "	5200 "	4800 "	450 "
" 24 "	zahllose "	zahllose "	viele Tausend "	zahllose "
" 3 Tagen	" "	" "	zahllose "	" "

Meerschweinchen C. 25. Juli 1904. Inaktiviertes Serum.

	Serum auf 37°		Serum auf 22°	
	Platten auf 37°	Platten auf 22°	Platten auf 37°	Platten auf 22°
Sofort	150 Kolonien	240 Kolonien	100 Kolonien	1250 Kolonien
Nach 2 Stunden	50 "	160 "	62 "	480 "
" 8 "	51 "	28 "	1800 "	6200 "
" 24 "	6 "	10 "	einige Tausend "	zahllose "
" 3 Tagen	0 "	0 "	zahllose "	" "

Meerschweinchen D. 28. Juli 1904. Aktives Serum.

	Serum auf 37°		Serum auf 22°	
	Platten auf 37°	Platten auf 22°	Platten auf 37°	Platten auf 22°
Sofort	2820 Kolonien	860 Kolonien	1020 Kolonien	746 Kolonien
Nach 2 Stunden	114 "	110 "	180 "	?
" 8 "	8 "	10 "	480 "	280 "
" 24 "	5 "	4 "	zahllose "	zahllose "
" 3 Tagen	einig. Taus. "	zahllose "	" "	" "

Inaktiviertes Serum.

		Serum auf 37°		Serum auf 22°	
		Platten auf 37°	Platten auf 22°	Platten auf 37°	Platten auf 22°
Sofort		1100 Kolonien	1890 Kolonien	980 Kolonien	1460 Kolonien
Nach 2 Stunden		275	340	310	620
" 8 "		1020	800	2480	1820
" 24 "		2600	4260	zahllose	zahllose
" 3 Tagen	zahllose	zahllose	zahllose	zahllose	zahllose

Ich bemerke, daß alle Uebertragungen in Serum oder aus Serum in Agar zwecks Herstellung der Platten immer mit derselben Oese vorgenommen wurden. Auch die Aufschwemmungen hielt ich immer möglichst uniform und konstant, wovon ich nur für das Meerschweinchen C eine Ausnahme machte, für das ich eine ziemlich keimarme Aufschwemmung zu erhalten suchte.

Tragen wir nun auch den der Methode selbst anhaftenden Fehlerquellen Rechnung, so sagt doch die Prüfung dieser Versuchsdaten sofort, daß die Bakterizide nicht nur zwischen Tier und Tier innerhalb diskreter Grenzen verschieden ist, sondern daß sie auch variiert, je nach der Varietät des verwandten Serums.

Die Injektion in die Augenvorkammer bestätigt für das Kaninchen die Beobachtungen Kisskalts; beim Meerschweinchen jedoch ist die Zerstörung des *Prodigosus* weniger rasch und auffallend. Ueberdies zeigt auch bezüglich des Kaninchens die von mir verwandte *Prodigosus*-Varietät eine etwas größere Widerstandsfähigkeit als diejenige, mit der Kisskalt operierte. Die Proben mit den Seris weichen dann auch hinsichtlich des Kaninchens ziemlich von denen Kisskalts ab.

Verwendet man, wie ich dies getan habe, diskrete Keimquantitäten, so bemerkt man in dem bei 37° inaktivierten Kaninchenserum ein gewisses, ihrem Anwachsen entgegentretendes Hindernis; doch ist dieses Hindernis immer mäßig, und auch bei Verwendung von aktivem Serum kann man nicht behaupten, daß die bakterientötende Wirksamkeit stark ausgesprochen sei.

Unzweifelhaft geht die Entwicklung im inaktivierten Serum besser bei 22° als bei 37° von statten, und dies zum mindesten während der ersten Stunden des Zusammenseins, was bestätigt, daß tatsächlich bei 37° das inaktivierte Kaninchenserum auf die Keimvermehrung hemmend einwirkt, was man bei niedrigeren Temperaturen nicht in gleichem Maße wahrnimmt; mit der von mir herangezogenen *Prodigosus*-Varietät bewirkt diese Erschwerung jedoch nur schwachen Effekt und verhindert nie die weitere Entwicklung der Keime.

Mit dem Meerschweinchenserum tritt die Tatsache dann noch klarer zu Tage, denn das inaktivierte Serum übt da, unter experimentellen Verhältnissen, nicht nur einen schwachen bakterientötenden Effekt auf den *Prodigosus* aus, sondern zuweilen ist auch das bakterizide Vermögen des aktiven Serums sehr schwach. Auch hier nimmt man in geringerem Grade die Tatsache wahr, daß die hemmende Wirkung bei 37° bedeutender ist.

Nur wenn man sehr geringe Keimmengen benutzt, kann man eine vollständige bakterizide Wirkung von seiten des Meerschweinchenserums bemerken; mit etwas hohen Dosen jedoch ist der Effekt des der weiteren Entwicklung des *Prodigosus* entgegentretenden Hindernisses ziemlich gering und von kurzer Dauer. Ich erwähne außerdem, was bemerkenswert, daß wir relativ häufig beobachten konnten, daß die in den

Entnahmen der 2—8-stündigen Serumaufschwemmungen entwickelten Kolonien bei 22° eine äußerst lebhafte Pigmentation aufweisen, die stark absticht von der schwachen Farbe der durch die Aufschwemmungen nach 24 Stunden oder 3 Tagen Zusammenseins erhaltenen Kolonien. Wenn man hier nun der Tatsache gedenkt, daß die aus dem Blute isolierten Keime diese lebhafte fuchsinähnliche Farbe zeigen, so stellt sich von selbst die Frage, ob in dem Serum nicht vielleicht eine Selektion der widerstandsfähigsten Keime stattfindet, die dann auch als die am meisten pigmenterzeugenden erscheinen.

Alles zusammenfassend, kann man behaupten, daß auf die zu den Versuchen herangezogene *Prodigiosus*-Varietät das inaktivierte Kaninchenserum bei 37° eine mäßige, bei 22° eine weniger stark hervortretende bakterizide Wirkung ausübt. Niemals gelingt es einem bei Verwendung diskreter Keimquantitäten (und unter denselben auch von anderen Forschern geschaffenen Bedingungen) eine vollständige oder wenigstens bedeutende Bakterizidie zu beobachten; in jedem Falle aber scheint diese hemmende Wirkung nach 8 Stunden aufzuhören.

Das aktive Kaninchenserum besitzt eine stärkere Einwirkung auf meinen *Prodigiosus*, doch ist es unter den meine Experimente beherrschenden Verhältnissen niemals zu einer vollen bakteriziden Wirkung gekommen.

Das inaktivierte Meerschweinchenserum setzt bei 37° der Entwicklung des *Prodigiosus* ein noch geringeres Hindernis entgegen; zu einer vollen Bakterizidie gelangt man nur, wenn man mit sehr wenigen Keimen operiert.

Die Bakterienabtötungsfähigkeit des inaktivierten Meerschweinchenserums hört auch bei 37° schon nach wenigen Stunden auf; der *Prodigiosus* kann also auch im Serum von 37° wachsen und sich vermehren.

Hinsichtlich aller dieser Erscheinungen stößt man auf bedeutende individuelle Schwankungen.

Diese Beobachtungen sind nicht nur für die *Prodigiosus*-Forschung von Interesse, sondern auch, nur in weit größerem Maße, für die Lehre von der natürlichen Immunität in Beziehung zu den apathogenen Keimen.

Die von Kiskalt gegebene Einteilung der Saprophytengruppe stimmt, wenigstens bezüglich des *Prodigiosus*, mit dem experimentellen Ergebnis schlecht überein. Ein Saprophyt kann im Kaninchenserum schlechte Entwicklungsbedingungen vorfinden, dagegen im Organismus des Meerschweinchens unter bestimmten Umständen besser wachsen und sich vervielfältigen.

Und überdies können von einem Saprophyten Varietäten bestehen, die dort gut zu wachsen vermögen, wo andere Kulturstämme sich nicht vermehren.

Dies muß auch beim *Prodigiosus* zutreffen. Von ihm existieren Stämme, deren Proteine ganz besonders aktiv sind, so daß also, sobald der Organismus geeigneter Tiere (Meerschweinchen) verletzt ist, der Keim sich sekundär entwickeln und auch in den Kreislauf eintreten kann.

Das kann auch dann der Fall sein, wenn in vitro und mit dem Serum einiger anderer Tiere beobachtet wird, daß der Keim abstirbt.

Indem ich also im allgemeinen alles, was über den *Prodigiosus* vorgebracht wurde, bestätigen kann, muß ich mich doch fragen, ob der von Kiskalt zur Abgrenzung der saprophytischen Keime gemachte Vorschlag nicht in Widerspruch tritt mit den Versuchsergebnissen. Auf jeden Fall aber, selbst wenn man geneigt wäre, scholastische Einteilungen anzunehmen, wäre es doch angebracht, sich daran zu erinnern, daß unter den zur I. Gruppe (Kiskalts) gehörenden apathogenen Keimen Varietäten existieren, die in vitro im Serum einiger Tiere ziemlich gut wachsen können, und auch fähig sind, sich im Organismus zu vermehren, wenn dieser zuvor mit bakteriischen Proteinen vergiftet ist, wenngleich unter den gewöhnlichen Infektionen erzeugenden Umständen (d. h. wenn eine geringe Anzahl von Keimen in den Organismus eindringt) diese Bakterienformen entweder durch die Wirksamkeit der Säfte des Organismus oder aber durch die defensive Arbeit der Leukocyten leicht zerstört werden.

Nachdruck verboten.

Erfahrungen mit der Spenglerschen Formalinmethode zur Reinzüchtung von Tuberkelbacillen aus Bakterien-gemischen.

[Aus dem chemisch-bakteriologischen Institute des Herrn
Dr. Ph. Blumenthal in Moskau.]

Von Dr. A. Dworetzky in Moskau.

Im verflossenen Jahre veröffentlichte Karl Spengler (1) eine neue, verhältnismäßig leichte und recht sinnreiche Methode zur Reinzüchtung von Tuberkelbacillen aus Bakteriengemischen mit Hilfe des Formalins. Die Methode basiert auf zwei Voraussetzungen: Erstens, daß alle normal färbbaren Tuberkelbacillen des Sputums lebens- und entwicklungsfähig sind, und zweitens, daß das Formalin in geeigneter Dosis die Misch- und Begleitbakterien jeden Sputums abtötet, ohne den Tuberkelbacillen ihre Entwicklungsfähigkeit zu nehmen, da letztere dem Formaldehyd gegenüber eine ganz ungleich größere Resistenz aufweisen sollen.

Die Technik des Verfahrens ist folgende: „Eine Petri-Schale wird mit einer oder auch einer doppelten Lage Filtrierpapier ausgekleidet. Auf den Boden der unteren Schale legt man ein denselben bedeckendes Blatt gewöhnlichen oder gehärteten Filtrierpapiers. Dieses nimmt das Sputum auf und zwar ca. 3 ccm eines Ballens, welcher etwa in einer Dicke von 2—2½ mm ausgebreitet wird.“ Spengler empfiehlt, das Sputum vor der Formalindesinfektion mit Pankreatin in dünner Lage zu bestreuen. „Das Pankreatin verdaut die schleimigen Massen des Auswurfes in den Kulturen und beseitigt dadurch ein nicht unwesentliches Hemmnis für das Tuberkelbacillenwachstum.“

Auf die mit dem Sputum beschickte Schale „wird nun ein den Schalenrand allseitig um einige Centimeter überragendes Filtrierpapierblatt gelegt und der Schalendeckel mit etwas Druck so auf die untere

Schale gestülpt, daß das Papier sich dem Deckelinnern allseitig innig anschmiegt. Ueberragende Papierteile schneidet man ab. Die Schalen- auskleidung dient zur Aufnahme des Formalins. Sie verhindert auch, daß unter dem Deckel sich ansammelnde Kondenswassertröpfchen auf das Sputum zurückträufeln.“ Für die Züchtungen rät der Autor möglichst kleine Formalindosen zu wählen, welche die Begleitbakterien unter Schonung der Tuberkelbacillen vernichten. Mit 3—5 Tropfen Formalin pro Petri-Schale soll ausnahmslos die gewünschte partielle Sputumsterilisierung erreicht werden, vorausgesetzt, daß man nicht zu große Sputummengen nimmt und der Auswurf nicht dünnflüssig ist.

Die versuchsfertige Schale wird in eine Temperatur von 20—25° C gebracht (Temperatur der Luftschichten auf dem Brutapparat oder in dessen nächster Nähe). Bei diesen Temperaturen erfolgt, wie Spengler behauptet, die Abtötung aller Sputumbakterien, ausgenommen der Tuberkelbacillen, innerhalb von 1—3 Stunden. Als rationell empfiehlt er die Uebertragungen des exponierten Sputums auf den zur Reinzüchtung dienenden Nährboden in 1-stündigen Intervallen, wobei das Material in dicker Lage auf der Glycerinagarfläche ausgebreitet wird. Spengler benutzte übrigens nicht den gewöhnlichen Glycerinagar, sondern einen „Somatose-Heyden-Glycerinagar“ von folgender Zusammensetzung:

Nährstoff Heyden	5,0	} Aq. destill. 1000,0
Somatose	5,0	
NaCl	5,0	
Glycerin	30,0	
Agar	15,0	
Kristallsoda	2,0—4,0	

Dieser Nährboden soll dem Wachstum der Tuberkelbacillen und der Sekundärbakterien vorteilhaft sein.

Auf Grund seiner Erfahrungen ist Spengler der Ansicht, daß die Tuberkelbacillenzüchtung nach seiner Methode zu den einfachsten Aufgaben des Bakteriologen gehört. Die Formalinmethode sei ein wertvolles diagnostisches und prognostisches Hilfsmittel, da man jederzeit in einfachster Weise sich durch Züchtungsversuche über die vorhandene Vitalität der Tuberkelbacillen orientieren und therapeutische Maßnahmen kontrollieren könne. Die Methode konkurriere in ihrer Zuverlässigkeit mit dem Tierexperiment und ermögliche letzteres, mit Ausschluß der störenden Zufälle der Sekundärinfektion.

Angesichts des großen wissenschaftlichen Interesses und der hohen praktischen Bedeutung, welche der Spenglerschen Methode zur Reinzüchtung von Tuberkelbacillen aus Bakteriengemischen zukommen würde, falls sie sich in der Tat bewähren sollte, beschloß Dr. Joseph Bronstein, Leiter der bakteriologischen Abteilung am Blumenthalschen Institute in Moskau, dieses vielverheißende Verfahren des bekannten Forschers einer Nachprüfung zu unterziehen. Das Ergebnis einer ganzen Reihe von Nachuntersuchungen war jedoch zu seiner Ueberraschung ein völlig negatives: Es gelang ihm in keinem Falle, auf die angegebene Weise Tuberkelbacillen aus Bakteriengemischen reinzuzüchten, da nach Ausschaltung der im tuberkulösen Sputum enthaltenen Misch- und Begleitbakterien durch die Formalineinwirkung auch die Tuberkelbacillen nach der Ueberimpfung auf den Nährboden nicht die mindesten Anzeichen von Wachstum aufwiesen. Durch Zeitmangel an der Fortführung

dieser Untersuchungen verhindert, veranlaßte mich Herr Kollege Bronstein, diese Aufgabe auf mich zu nehmen.

Bei der Ausführung der Versuche war ich nach Möglichkeit bestrebt, Fehlerquellen zu vermeiden und mich strikt an die Vorschriften des Autors zu halten. Erst im weiteren Verlaufe sah ich mich genötigt, einige Versuchsmodifikationen vorzunehmen. Die Petri-Schalen und das sie auskleidende Filtrierpapier wurden vor dem Gebrauche sterilisiert. Auf der Bodenauskleidung der unteren Schale wurde das Sputum in einer Menge von 3—4 ccm und in einer Dicke von $1\frac{1}{2}$ —3 mm ausgebreitet, mit Pankreatinpulver zart bestreut und dann mit demselben innig vermengt. Aus dem reichhaltigen Analysenmaterial des Blumenthalschen Institutes wählte ich für die Versuche vornehmlich solche Sputa aus, welche neben gut färbbaren, in mehr oder minder großer Anzahl vorhandenen Tuberkelbacillen noch Staphylokokken, Streptokokken und sonstige Misch- und Begleitbakterien enthielten. Auf die Auskleidung des Schalendeckels wurde Formalin (Originalpräparat von Schering) in bestimmter Menge mit der Pipette aufgeträufelt und die geschlossene versuchsfertige Schale auf den Brutapparat gestellt. In gewissen Zeitintervallen wurde das den Formalindämpfen ausgesetzte Sputum auf den oben angegebenen, sorgfältigst bereiteten Spenglerschen Nährboden übertragen; zu Parallelversuchen benutzte ich mitunter auch gewöhnlichen Glycerinagar. Die Röhrchen wurden behufs Hintanhaltung der Austrocknung des Nährbodens mit Gummikappen bedeckt, zum Teil später auch zugeschmolzen und in den Brutschrank gestellt.

Auf die soeben beschriebene Weise wurden von mir 16 Versuche ausgeführt.

1. Versuch. 15. März 1904. 3 Petri-Schalen (No. 1, No. 2 und No. 3) werden mit tuberkulösem Sputum (No. 95 688) beschickt. In Schale No. 1 wirken 3 Tropfen Formalin 1 Stunde, in Schale No. 2 4 Tropfen $\frac{3}{4}$ Stunde, in Schale No. 3 5 Tropfen Formalin $\frac{1}{2}$ Stunde ein. Ueberimpfung aus sämtlichen 3 Schalen auf Spenglerschen Nährboden und zwar in Intervallen von $\frac{3}{4}$ Stunden.

16. April. In keinem der nicht durch andere Kolonien verunreinigten Röhrchen auch die leiseste Spur von Tuberkelbacillenwachstum.

2. Versuch. 17. März 1904. Sputum No. 95 778. Formalin 3 Tropfen. Einwirkungsdauer $\frac{1}{2}$ Stunde. Uebertragungen auf Spenglerschen Nährboden jede halbe Stunde.

14. April. In den Röhrchen, in denen keine sonstigen Bakterien zur Entwicklung gekommen sind, auch keine Spur von Tuberkelbacillenkolonien.

3. Versuch. 19. März 1904. Sputum No. 95 853. Formalin 3 Tropfen. Einwirkungsdauer $\frac{1}{2}$ Stunde. Halbstündige Ueberimpfungen auf Spenglerschen Nährboden.

14. April. In den von Ueberwucherungen frei gebliebenen Röhrchen nicht die mindesten Anzeichen von Tuberkelbacillenkulturen.

4. Versuch. 24. März 1904. Sputum No. 95 940. Formalin 3 Tropfen. Einwirkungsdauer 1 Stunde. In halbstündigen Intervallen Uebertragungen auf Glycerinagar.

7. April. In fast allen Röhrchen kommen Kokkenkolonien zur Entwicklung, in keinem sind Tuberkelbacillenkolonien zu sehen.

5. Versuch. 2. April 1904. Sputum No. 7808. Formalin 3 Tropfen. Einwirkungsdauer $\frac{1}{2}$ Stunde. Halbstündige Uebertragungen auf Spenglerschen Nährboden und auf Glycerinagar.

7. April. In den Glycerinagarröhrchen haben sich die Misch- und Begleitbakterien viel eher zu Kolonien entwickelt als in den korrespondierenden Röhrchen mit Spenglerschem Nährboden.

24. April. Nirgends Tuberkelbacillenwachstum.

Nach diesen Experimenten mit absolut negativem Resultat ging ich dazu über, die zur Sputumdesinfektion benutzte Formalindosis zu verringern.

6. Versuch. 1. April 1904. Sputum vom Phthisiker K. Formalin 2 Tropfen. Einwirkungsdauer $\frac{1}{2}$ Stunde. Ueberimpfungen alle halbe Stunden auf Spenglerschen Nährboden.

24. April. Nirgends Tuberkelbacillenwachstum.

7. Versuch. Sputum No. 96 751. Formalin 2 Tropfen. Einwirkungs-
dauer $\frac{1}{2}$ Stunde. Halbstündige Uebertragungen auf Spenglerschen
Nährboden und parallel damit auf Glycerinagar.

Nach 3 Wochen negatives Ergebnis.

8. Versuch. 1. Mai 1904. Sputum No. 97 529. Formalin 2 Tropfen.
Einwirkungsdauer $\frac{1}{4}$ Stunde. Ueberimpfung alle 15 Minuten auf
Glycerinagar.

24. Mai. Auch dieses Experiment wies, trotz der verkürzten Ein-
wirkungsdauer, ein negatives Resultat auf. In den von sonstigen
Bakterienkolonien freien Röhrchen waren nach 24 Tagen keine Tuberkel-
bacillenkolonien zu sehen.

9. Versuch. 4. Mai 1904. Sputum No. 97 796. Formalin 2 Tropfen.
Einwirkungsdauer $\frac{1}{4}$ Stunde. Ueberimpfung alle 15 Minuten auf Speng-
lerschen Nährboden.

24. Mai. Ebenfalls negatives Ergebnis.

10. Versuch. 13. Mai 1904. Sputum No. 98 096. Formalin 2 Tropfen.
Einwirkungsdauer $\frac{1}{2}$ Stunde. Darauf in viertelstündigen Intervallen
Uebertragungen auf Spenglerschen Nährboden und parallel damit auf
Glycerinagar.

3. Juni. Ergebnis negativ.

11. Versuch. 14. Mai 1904. Sputum No. 98 157. Formalin 2 Tropfen.
Einwirkungsdauer 20 Minuten. Darauf viertelstündlich Uebertragungen
auf Spenglerschen Nährboden und auf Glycerinagar.

5. Juni. Nirgends Anzeichen von Tuberkelbacillenwachstum.

Auch diese Versuchsreihe war von einem kompletten Mißerfolge
begleitet. Waren unter dem Einflusse der Formalindesinfektion nach
Ablauf eines bestimmten Zeitraumes keine Kolonien von Misch- oder
Begleitbakterien in den Glycerinagar- oder Somatose-Heyden-Glycerin-
agarröhrchen zu sehen, so entwickelten sich auch nach längerer Zeit
keine Tuberkelbacillenkolonien in denselben. Manchmal schien es bei
der mikroskopischen Untersuchung von Partikelchen mit Formalin vor-
behandelten und vor längerer Zeit auf einen der beiden Nährböden
übergeimpften Sputums, als ob die Tuberkelbacillen sich vermehrt hätten
und eine Anreicherung aufweisen würden, aber der Schein war trügerisch,
und zu einem sichtbaren Wachstum, zu einer Bildung von charakte-
ristischen Kolonien ist es auch nach wochenlanger Beobachtung nicht
gekommen.

Von der Erwägung ausgehend, daß meine Mißerfolge durch die
immer noch zu große Formalindosis bedingt sein könnten, legte ich mir
die Frage vor, ob es nicht gelingen dürfte, mit Hilfe bloß eines ein-
zigen Formalintropfens eine „partielle“ Sputumdesinfektion zu
ermöglichen. Ich stellte demgemäß 5 weitere Versuche an, in denen

ich 1 Tropfen Formalin 10—15 Minuten lang auf das Sputum einwirken ließ, wonach in Zwischenräumen von 10—15 Minuten dasselbe auf den Spenglerschen Nährboden oder auf Glycerinagar übertragen wurde. Sind die Tuberkelbacillen in Wirklichkeit mit einer erheblicheren Resistenz dem Formaldehyd gegenüber ausgestattet als die übrigen Bakterien des Sputums, wie es Spengler behauptet, so müßte bei dem soeben bezeichneten Verfahren — minimale Formalindosis, möglichst kurze Einwirkungsdauer, häufiges Ueberimpfen — mit Notwendigkeit ein Zeitpunkt eintreten, in welchem die Misch- und Begleitbakterien abgetötet, die Tuberkelbacillen hingegen zwar abgeschwächt, aber doch lebens- und entwicklungsfähig sind. Dieser Moment stellte sich jedoch in keinem der 5 Versuche ein, alle hatten ein negatives Ergebnis, in keinem einzigen gelang die Reinzüchtung der Tuberkelbacillen aus dem im Sputum enthaltenen Bakterien-gemisch.

Auf Grund dieser Erfahrungen mußte ich wohl zu dem Schlusse kommen, daß „eine sichere Abtötung der Begleit- und Mischbakterien ohne nennenswerte Schädigung der Tuberkelbacillen“ unmöglich ist, daß letztere durchaus nicht widerstandsfähiger gegen das Formalin sind als erstere und daß deshalb die Formaldehyddesinfektion sich zur Züchtung der Tuberkelbacillen aus Bakteriengemischen nicht eignet. Demnach sind auch die von Spengler gegen die Flüggesche Desinfektionsmethode von Phthisikerräumen mittels Formaldehyd gerichteten Angriffe völlig unberechtigt.

Ich hätte mich wohl kaum so rasch zu einer Veröffentlichung meiner negativen Versuchsergebnisse entschlossen, wenn ich nicht nach Abschluß meiner Arbeit auf zwei Urteile über die Spenglersche Methode gestoßen wäre, welche mit dem meinigen vollständig übereinstimmen. Wie H. Bonhoff (2) berichtet, unterzog Dr. Werner¹⁾ in seiner Abteilung die Versuchsanordnung Spenglers einer genauen Nachprüfung. Es zeigte sich nun, daß zwar Tuberkelbacillen etwas schwerer unschädlich zu machen sind als manche andere Keime, daß aber im allgemeinen bei dem Grade der Formaldehydeinwirkung, bei welchem eine Abtötung der Begleitbakterien mit einiger Sicherheit erlangt wird, auch die Tuberkelbacillen sich im Tierversuch als infektiionsunfähig erwiesen. Ferner ist es in keinem einzigen Falle gelungen, eine zweifelloose Vermehrung von Tuberkelbacillen auf dem von Spengler angegebenen Nährboden zu sehen.

Auch Léon Jacqué (3) ist es trotz der „skrupulösesten“ Befolgung sämtlicher Vorschriften nicht geglückt, mit dem Spenglerschen Verfahren irgend welche positive Resultate zu erzielen: Ueberall da, wo die Misch- und Begleitbakterien abgetötet waren, waren es auch gleicherweise die Tuberkelbacillen („Partout où les bactéries étrangères étaient détruites, il en était de même des bacilles de la tuberculose“). In denjenigen Kulturen, in welchen die Begleitbakterien nicht sämtlich vernichtet waren, konnte er auch keine zweifelloose Vermehrung von Tuberkelbacillen konstatieren. In einigen Versuchen modifizierte Jacqué die Spenglersche Methode dahin, daß er das mit Formalin vorbehandelte Material auf Hesseschen Glycerinagar übertrug, aber auch hier waren die Ergebnisse völlig negativ.

1) Anmerkung bei der Korrektur. Die betreffende Arbeit des Herrn G. Werner ist unterdessen im Archiv für Hygiene. Bd. L. Heft 4. p. 305 erschienen („Zur Kritik der Formaldehyddesinfektion“).

Demgegenüber behaupten Weber und Taute (4), mit der von Spengler zur Züchtung von Tuberkelbacillen aus dem Sputum angegebenen Methode bei entsprechend verkürzter Zeitdauer der Formalinwirkung sehr gute Resultate erzielt zu haben.

Es erübrigt noch, über mehrere Versuche zu berichten, welche ich nach einer von S. Piątkowski (5, 6) angegebenen Modifikation des Spenglerschen Verfahrens angestellt habe. Die von diesem Autor ausgearbeitete Methode der Isolierung von säurefesten Bacillen aus Bakteriengemischen besteht darin, „daß man eine kleine Menge des bacillenhaltigen Materials mit Wasser oder Bouillon (10 ccm) mischt, einige (2—3) Tropfen Formalin zugießt, das Probierglas zupfropft, den Inhalt genau durchschüttelt und nach Verlauf von $\frac{1}{2}$ Stunde mit ihm ein Probierglas mit gewöhnlichem oder Glycerinagar beimpft und dieselbe Manipulation dann einige Male jede $\frac{1}{4}$ Stunde wiederholt. In einem oder einigen Probiergläsern erhält man die Reinkultur des untersuchten säurefesten Bacillus.“ Auch Piątkowski ist der Ansicht, daß die Gruppe der säurefesten Bacillen in Bezug auf das Einwirken der verdünnten Formalinlösungen weniger empfindlich ist als andere Bakterienarten. Die beschriebene Formalinmethode soll zur leichten und ziemlich schnellen Isolierung der säurefesten Bacillen und auf Grund des spezifischen Aussehens der Reinkulturen und deren Eigenschaften auch zur bakteriologischen Diagnose dienen.

Nach dieser Modifikation nahm ich 7 Isolierungsversuche vor. Zur Untersuchung kamen: 4mal Sputa von Phthisikern und zu je 1mal tuberkelbacillenhaltiger Harn, eine verkäste, tuberkelbacillenhaltige Lymphdrüse von einem an Tuberkulose eingegangenen Meerschweinchen und tuberkelbacillenhaltige Cerebrospinalflüssigkeit. Auch diese Versuche hatten ein negatives Ergebnis, obgleich ich genau nach den Vorschriften des Autors verfuhr. Allem Anscheine nach gehen die Tuberkelbacillen gleichzeitig oder fast gleichzeitig mit den übrigen Bakterien zu Grunde.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, Herrn Dr. Blumenthal für die freundliche Ueberlassung des Materials und der Hilfsmittel seines Institutes sowie Herrn Dr. J. Bronstein für die Anregung zu dieser Arbeit und für die stets liebenswürdige Unterstützung und Anleitung auch an dieser Stelle meinen besten Dank auszusprechen.

Literatur.

- 1) Spengler, Karl, Tuberkelbacillenzüchtung aus Bakteriengemischen und Formaldehydesinfektion. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XLII. 1903. p. 90.)
- 2) Bonhoff, H., Ueber einige neuere Untersuchungen auf dem Gebiete der Formaldehydesinfektion. (Berl. klin. Wochenschr. 1904. No. 19.)
- 3) Jacqué, Léon, A propos des procédés de Hesse et de Spengler, pour la culture du bacille de la tuberculose. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1904. No. 3. p. 461.)
- 4) Weber, A. u. Taute, Zur Frage der Umwandlung der Tuberkelbacillen im Kaltblüterorganismus. (Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 28.)
- 5) Piątkowski, S., Eine neue Methode zur Isolierung von säurefesten Bacillen. (Zeitschr. f. öffentl. Gesundheitspf. 1903. Oktoberheft, p. 1275.) [Russisch.]
- 6) — —, Ueber eine neue Eigenschaft der Tuberkel- und anderer säurefester Bacillen. (Dtsche med. Wochenschr. 1904. No. 24.)

Nachdruck verboten.

Some researches on anaërobic cultures with phosphorous.

By A. W. Sellards, Lawrence, Kansas, U.S.A.

With 2 figures.

In reviewing the literature with regard to the effect of oxygen on bacteria, one finds that very few strict anaërobes are known and also that very little is recorded of the anaërobic growth of the facultative forms. Apparently the majority of bacteria are studied under aërobic or imperfect anaërobic conditions. This is probably owing to the fact that the various anaërobic methods now in use are either limited in application and complicated by the use of special media and apparatus becoming tedious and time-consuming or else they are often lacking in effectiveness. It seems not unlikely, however, that anaërobic, as well as aërobic growth, may be of considerable economical and scientific importance.

There seems to be no record of the use of phosphorous in any anaërobic work, although it is one of the most powerful absorbing agents of oxygen. Hempell, in his work on gas-analysis, found that phosphorous, aside from being much more rapid than the alkaline pyrogallate method, gave slightly but constantly higher results in the determinations of oxygen. Phosphorous is also a very convenient oxygen-absorbing agent as compared with alkaline pyrogallate. It requires no previous preparation, it keeps well, and its quality as regards absorbing efficiency is very easily tested. With the aid of phosphorous, it was hoped that we might obtain still stricter anaërobic conditions and also give a convenient rapid method for studying anaërobes.

Two possible difficulties were anticipated in the use of phosphorous in connection with bacteria; Firstly, that the oxides of phosphorous formed during the absorption of the oxygen might change the reaction of the media employed, secondly, that the vapors of the elementary phosphorous might injure the nutrient media. Thus far no discernible trouble has been encountered from either source. Phosphorous seems to be applicable to all forms of cultures and culture media, giving excellent anaërobic conditions with a minimum amount of trouble above that required for aërobic work. Practically no special apparatus is required and the cultures may be opened at any time without disturbing them or rendering impractical further anaërobic growth in the same media.

The phosphorous has always been placed several centimeters from the culture medium and plenty of moisture supplied for taking up the phosphoric acid anhydrides. In all cases a large excess of potassium hydroxide or magnesium was provided for the neutralization of the phosphoric acids. In an atmosphere saturated with water vapor, the surface of the phosphorous is washed free from oxidation products and may be used repeatedly until it has entirely disappeared by oxidation. Apparently no trouble has been encountered with the vapors of the elementary phosphorous. As the phosphorous is but slightly volatile at the ordinary temperatures and as any air currents set up by the slow oxidation of the phosphorous would retard the diffusion from the phosphorous to the media, it seems not improbable that weeks or even

months might be required for the phosphorous vapors to reach the media in any appreciable quantity. It is also possible that the phosphorous might serve as a food for bacteria. A piece of phosphorous was allowed to fume for about one minute in the air and was then dropped into steril bouillon. After twenty-four hours at the temperature of the incubator, a very abundant growth of a mixed culture of bacteria was obtained.

Hanging-drop cultures were the first which were attempted using phosphorous to absorb the oxygen. Cells 24×40 mm were constructed from ordinary slides, balsam being used for a cement. To make

the protection of the media against phosphorous and its oxides doubly sure, strips of glass were arranged as indicated in fig. I.

a, b, c, d, represent narrow strips of glass cut from ordinary slides forming the sides and ends of the cell. e and f are similar strips of the same thickness which are so placed that the phosphoric acid fumes must wind between them before reaching the body of the cell. The phosphorous is placed at the point p. The spaces between e, f, and a are filled with coarse magnesium powder. The bottom of the cell is covered with water to prevent the drying of the media and for the formation of phosphoric acid and magnesium phosphate from the phosphoric acid anhydrides.

A few calculations will show that it is rather improbable that media in the cell just described could be injured by the phosphoric acid. When the cell is ready for use it will not have a capacity of more than 0.5 ccm. This volume of air contains 0.0015 g of oxygen. On oxidation of phosphorous in the air the principal product formed is phosphorous pentoxide. The maximum quantity of phosphoric acid which could result from 0.0015 g of oxygen is 0.0025 g. In view of these calculations one would hardly expect that the hanging drop cultures would fail to grow.

B. tetani was the only strict anaërobie that was tested. Spores of this organism in ordinary agar and in 1% glucose bouillon, germinated over night at 37.5 degrees C. and went into spore formation in 48 hours. Spores of *Aspergillus niger*, a strict aërobie, refused to germinate. *B. pyocyaneus* and *B. megatherium*, facultative aërobies, showed no growth visible to the naked eye in 24 hours, while control cultures kept in the air almost reached their maximum development in this time. *B. coli communis* and *B. typhosus* in 24 hours at 37.5 degrees C. in glucose bouillon showed abundant growths which were easily distinguishable by the naked eye, the *Coli* colonies being thin and translucent while the *typhosus* grew much more rapidly forming a dense colony.

All sorts of test-tube cultures were readily made by substituting a few small pieces of phosphorous for the pyrogallic acid of Buchner's apparatus. The phosphorous was used in sticks about 1.0 mm in diameter and about 5 to 10 mm in length which were prepared by sucking phosphorous melted under water into thin walled capillary tubes. These

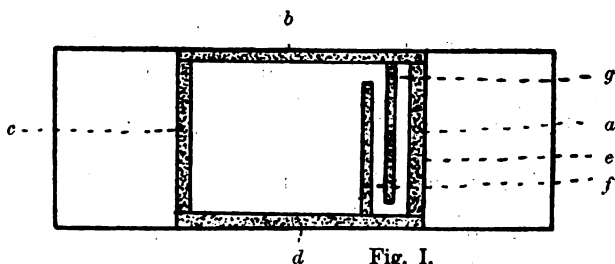


Fig. I.

sticks readily adhered to the walls of the test-tube when moistened with the potassium hydroxide solution. For the outer tube, an ordinary specimen tube, 18×120 mm was used and for the culture tube, a smaller specimen tube, 14×90 mm. One-half of one ccm of a 5% solution of sodium or potassium hydroxide was used in the bottom of the large tube. The phosphorous pentoxide forms immediately taking up water to form phosphoric acid which descends as a white cloud into the potassium hydroxide. In the presence of much water vapor, the white cloud formed indicates the extreme limit of the phosphoric acid. In a few hours the main portion of the oxygen is absorbed but not completely until after 24 hours at the temperature of the incubator. This is shown by using a tube of uninoculated glucose agar. So complete is the absorption that the media becomes entirely colorless, decolorization commencing at the bottom of the tube and working gradually upwards. This is one proof of the superiority of phosphorous over potassium pyrogallate, since by Buchner's method it was not possible to secure decolorization of the uninoculated media. Methylene blue worked in the same way as litmus and is perhaps an even more delicate indicator for oxygen. Except by using phosphorous, it seems that if free oxygen is to be removed from the media itself, one is limited to liquifiable media. If the media is to be freed from air by washing it with hydrogen or boiling it under diminished pressure, one is further limited to flasks or test-tubes as culture vessels. Hammerl's method by reduction with ammonium sulfid may be used with Petri dishes or Smith fermentation tubes but it is applicable only in alkaline solution.

Another indication of the effectiveness of the method, is that *B. tetani* and other stab cultures grew equally well at the surface and in the depth of the stab. *B. tetani* also grew much more rapidly than by Buchner's method, growth being plainly visible in glucose agar after 24 hours at 37.5 degrees C.

If for any reason it was desired to hasten the absorption of the oxygen — as in testing the anaërobic growth of the facultative forms — some of the phosphorous was set on fire, after the large tube was carefully sealed with a rubber stopper, by gently warming the tube in the flame. The piece selected to be burned should lie against the wall of the outer tube, three to the four cm below the mouth of the culture tube: then there will be no danger of the phosphoric acid reaching the media. It is of course necessary to have a second or third piece of phosphorous at a safe distance from the one which is burned to take up the remaining oxygen.

The method of Wright may be adapted for use with phosphorous, perhaps even more conveniently than Buchner's. Cultures of *B. tetani* were repeatedly made successfully by inoculating unboiled glucose agar, pushing a small plug almost to the surface of the agar, and then introducing some phosphorous and a second cotton plug thoroughly saturated with 5% potassium hydroxide. The tube was sealed with a rubber stopper and inverted. When the tubes were kept erect the potassium hydroxide did not reach the media although it sometimes soaked into the second plug.

When it was desired to make a large number of tube cultures, the tubes were enclosed in a wide mouthed bottle which could be easily sealed with a rubber stopper. The bottom of the bottle was covered

with cotton, soaked in 5 % sodium hydroxide, in order to, protect the tubes and afford a convenient place for the phosphorous. It was found that the phosphorous always took fire and much quicker than in the open air, probably because the heat of the reaction is confined. It was necessary therefore to have everything ready for sealing the vessel as soon as the phosphorous was put in. If several pieces of phosphorous were placed in different parts of the jar not more than one or two took fire, always leaving plenty of phosphorous to complete the removal of the oxygen.

When a number of anaërobic plates were to be made, they were sealed in a glass jar such as Novy recommends for use with hydrogen. The same arrangements were made as in sealing a bottle of tubes with hydrogen. The white cloud which fills the jar upon ignition of the phosphorous is principally water vapor. Plate cultures for the separation of aërobes and anaërobes were made with better success by adapting the method of Hammerl. An inoculated Petri dish was inverted, the lower half serving to contain the sodium hydroxide and phosphorous. It is cut off from the air by sealing the Petris with equal parts of resin and beeswax in preference to parafin. The parafin contracts considerably on cooling, sometimes causing leakage, and also seems to permit a slow diffusion of the air. Hempell in working on gas-analysis found that layers of oil such as are used in Botkins anaërobic apparatus, permit a slow diffusion of air. In order to protect the media, the phosphorous was put in a glass tube open at both ends and about three-fourths the length of the Petri dish. Plate cultures were made successfully both with and without the glass tube around the phosphorous but sometimes, without the tube and at incubator temperature, it seemed, judging from the distribution of the colonies, that the phosphorous had affected the media directly above it.

Satisfactory anaërobic conditions were obtained in Smith fermentation tubes by sealing the tube in a Mason jar with phosphorous or more conveniently by attaching, with a rubber connection, a sharply bent tube sealed at one end, to the outlet of the fermentation tube. The closed end of the bent tube contained the phosphorous and potassium hydroxide for the absorption of the oxygen. *B. tetani* was successfully cultivated in this manner. In three and one-half days about 0.25 ccm gas was produced in addition to a flocculent precipitate about equally distributed in each arm of the tube. The culture was made in 1 % glucose bouillon and kept at incubator temperature for three days. A control culture showed no growth.

A considerable number of cultures were made by the modified methods just described. *Aspergillus niger* and *Penicillium glaucum italicum* refused to grow and when exposed to the air the *Penicillium* still refused to grow. It has been shown by Pfeffer that *Penicillium* spores are killed by the absence of oxygen.

B. tetani, beside growing much more rapidly, repeatedly failed to produce acid or gas although microscopic examinations showed the characteristic bacilli. Since *B. tetani* must have oxygen for the acid it produces this failure to form acid might indicate more perfect anaërobic conditions in view of the fact that acid is usually formed in deep glucose agar stab-cultures which, of course have some free oxygen present.

A suggestion of the effectiveness of the anaërobic plate methods, when the plates were sealed separately with the phosphorous, was obtained by the following experiment: a sample of garden-earth, mixed with bouillon, was plated, in equal quantities, on glucose agar. Three aërobic plates developed 300 to 350 colonies each in three days, whereas the three anaërobic plates developed only 50 to 75 colonies each in the same time. On admitting air to the anaërobic plates the number of colonies soon equalled approximately the number in the aërobic plates.

The most striking difference was found in the liquefying forms. *B. graveolus*, *B. pyocyaneus*, *B. megatherium*, *B. anthracis*, *Staphylococcus pyogenes aureus*, *Sarcina lutea* and *Proteus vulgaris* grew feebly in glucose gelatine stabs. The growth was equally well distributed throughout the line of inoculation. No liquefaction and no pigment was produced by any of the forms mentioned. Control cultures kept in air showed the bacteria to be normal active organisms, all producing liquefaction and the pigment producing forms giving rise to their respective pigments. The cultures kept in anaërobic conditions were not killed as was shown by their constant but feeble

growth and further on exposing the cultures to the air, the bacteria grew much more rapidly, regaining their power of producing liquefaction, and of pigment in the case of pigment producing forms. The cultures represented in fig. II were grown in 1% glucose gelatine. They show the characteristic differences between the aërobic and anaërobic growth of a liquefying, pigment-producing form. All the cultures are of *B. pyocyaneus* at room-temperature. A. is an aërobic culture 5 days old. B. is an anaërobic culture 5 days old. C. is a culture which was kept 5 days in anaërobic conditions followed by 3 days in aërobic conditions.

Since proteolytic fermentation is essentially a process of hydrolysis, it seemed interesting to see if yeasts and bacteria could produce in version of cane-sugar —

which is also a hydrolyzing action — in anaërobic culture. Some cane-sugar bouillon was inoculated with a pure culture of yeast. A good growth had taken place in 12 hours but no reducing sugars could be detected with Fehling's solution and no alcohol by the iodoform test. A control culture showed an abundance of invert sugars and some alcohol. Another tube of cane-sugar bouillon was inoculated with a mixed culture of bacteria from some fermenting sugar-cane, but no inversion could be detected while an aërobic control culture gave abundant evidence of inversion.

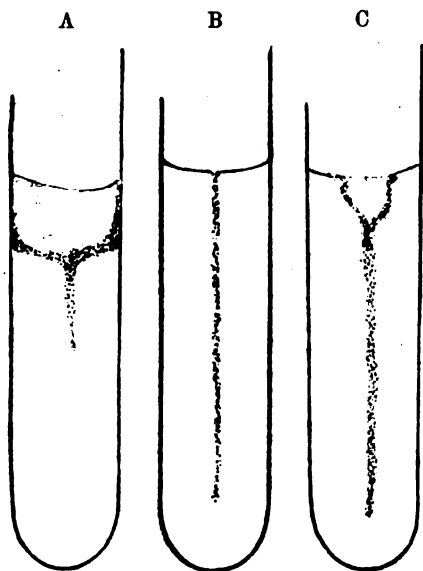


Fig. II.

Summary.

We have found phosphorous to be a very effective and very convenient agent for absorbing oxygen in anaërobic work: it is easily obtained, it requires no special preparation, and its absorbing-efficiency is readily observed. Cultures may be made almost as rapidly as in aërobic work: the methods are also very wide in their application.

The oxygen was so completely absorbed by the phosphorous that uninoculated media, stained with litmus or methylene blue, was decolorized within 24 hours: further, anaërobes grew well while aërobes refused to grow.

No phosphoric acid could be detected in the media employed. The vapors of the elementary phosphorous have had no discernible effect.

Facultative bacteria show some differences when grown by the methods just described. Seven liquefying aërobes were tested. All grew but none produced liquefaction until placed under aërobic conditions. The inversion of cane-sugar bouillon, inoculated with a pure culture of yeast and also with a mixed culture of inverting forms, was prevented by keeping the cultures in anaërobic conditions.

The work described in this article was carried on in the department of bacteriology, of the University of Kansas, under the direction of Prof. M. A. Barber.

Spring of 1904.

Nachdruck verboten.

Ein neuer Nivellierapparat und dessen Anwendung.

[Aus dem eigenen Laboratorium in Lodz.]

Von Dr. Stanislaw Serkowski.

Mit 3 Figuren.

In den bakteriologischen Laboratorien ist allgemein der Kochsche Nivellierapparat im Gebrauch, der bloß eine Anwendung hat, nämlich zur Einstellung der Platten und Schalen, damit der Nährboden nach der Beimpfung schnell und horizontal erstarrt, dient. Nun aber läßt die Laboratoriumspraxis das Bedürfnis eines Nivellierapparates auch für andere Zwecke fühlen, für die der Kochsche Apparat, der übrigens auch für Platten und Schalen zu kompliziert ist, sich nicht eignet. Der Kochsche Apparat besteht aus einem dreieckigen, hölzernen oder eisernen, mit 3 Schrauben versehenen Gestell, auf welches man ein offenes Glasgefäß stellt, in letzteres stellt man ein kleineres, mit Wasser und Eisstückchen gefülltes und mit einer matten Glasplatte bedecktes, auf einigen Pfropfen ruhendes Gefäß hinein. Mittels Libelle kann man die obere Platte horizontal einstellen. Solch ein Apparat ist nicht nur zu kompliziert, sondern hat auch noch andere Mängel. Er ist zu schwer und hoch. Das Zugeben von Eis zum Wasser, d. h. das übermäßige Erkalten der Platten, ist nicht nur überflüssig (Gelatine oder Agar erstarren schnell auch bei gewöhnlicher Zimmertemperatur), sondern sogar schädlich wegen des hemmenden Einflusses der niedrigen Temperatur auf wenige (gleich nach der Beimpfung) in den Platten enthaltene Bakterien. Deshalb zeigt auch die Praxis in verschiedenen Laboratorien,

daß man fast nirgends das Wasser im Kochschen Apparat vor seiner Benutzung wechselt; übrigens ist das schwer ausführbar in einem Laboratorium, wo man des Nivellierapparates sich jeden Augenblick zu bedienen hat. Wir müssen stets das Eis unter der Hand haben und nach jedem Wechsel von Wasser mit Eis wieder den Apparat nivellieren, was zu viel überflüssige Umstände erfordert hätte. Wenn das Hinzufügen von Eis auf die Geschwindigkeit des Erstarrens des Nährbodens Einfluß haben, diese Geschwindigkeit aber die Platten vor der schädlichen Lichteinwirkung sicherstellen soll und wenn eben dieser Umstand Ursache des von Koch vorgeschlagenen Eiszugebens war, so wird die schädliche Lichteinwirkung sowie die unerwünschte Verunreinigung von der Luft her durch eine schwarz gefärbte Glasglocke zum Zudecken der Platten entfernt.

Da ich zu vielen Arbeiten einen einfachen Apparat brauchte, so beauftragte ich die Firma Karolewski & Kamiński in Warschau, einen Nivellierapparat nach dem anbei angegebenen Modell zu verfertigen, der mir jetzt gute Dienste erweist und einer der unentbehr-

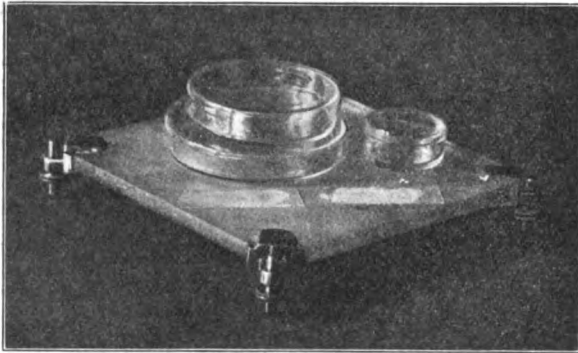


Fig. 1.

lichsten Laboratoriumshandapparate wurde, denn man kann ihn anwenden 1) als Nivellierapparat für Platten und Schalen nach der Beimpfung des Nährbodens mit dem zu untersuchenden Material, 2) als Nivellierapparat beim gleichmäßigen Austrocknen der mikroskopischen Präparate, 3) als Ekran zur Untersuchung (makroskopisch oder mittels Lupe) der Bakterienkolonien und 4) als Basis für das Mikroskop.

Der Apparat besteht ausschließlich aus einer drei- oder viereckigen Glasplatte (zur 1., 2. und 4. Anwendung kann er auch aus einem anderen Material, z. B. Porzellan, sein), die auf 3 oder 4 Schraubfüßen genau befestigt ist, wie es die beigelegten Photographieen zeigen. Die Glasplatte ist dick, die Füße sind stark und ganz genau befestigt (Phot. 1). Nach Nivellierung dieses einfachen und handlichen Apparates kann man auf ihn Platten oder Schalen mit dem flüssig gewordenen Nährboden legen und sie mit schwarz gemalter Glocke zudecken. Gelatine erstarrt gleichmäßig während etlicher Minuten. Dieselbe Nivellierplatte dient zum Austrocknen der auf sie gelegten mikroskopischen Objekt- wie Deckglaspräparate, bei denen es, wie bekannt, sehr wichtig ist, daß das auf den Gläsern ausgeschmierte Material als eine dünne und ganz gleichmäßige Schicht austrocknet. Bei der Untersuchung flüssiger Präparate,

z. B. der Harnsedimente, auf Objektträgern etc., ist dem Mikroskopierenden daran gelegen, daß das Präparat gleich horizontal liegt; deshalb ist es am besten, alle Mikroskope auf den oben beschriebenen Nivellierplatten stationär aufzustellen. In vielen Laboratorien gibt es öfters keine Glastische für Mikroskope, und deshalb liegen die Glocken nicht dicht genug dem Tisch an und hüten das Mikroskop ungenügend vor dem Staub. Das Mikroskop unter einer Glocke auf dem hier beschriebenen Apparate aufgestellt, hebt auch diese Unbequemlichkeit auf (Phot. 2).

Dieselbe Nivellierplatte endlich kann im Laboratorium auch zu anderen Zwecken dienen: Wenn man deren eine Hälfte schwarz färbt, unter die zweite Hälfte eine weiße Karte mit auf ihr aufgestrichenen Linien (die letzteren müssen dick gestrichen werden nach dem Muster der Apparate Wolffhügels oder Lafars zum Zählen der Kolonien), wie es Phot. 3 darstellt, anklebt, so kann die schwarz gefärbte Platten-



Fig. 2.

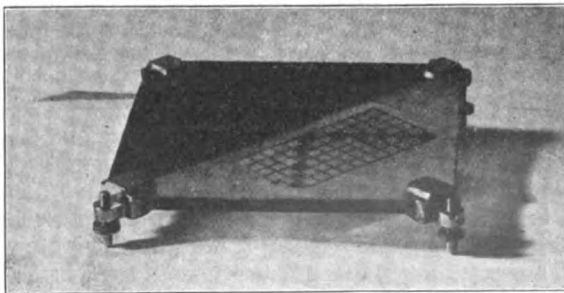


Fig. 3.

hälfte zum Zählen der Kolonien und Vertreten der entsprechenden, zu kostspieligen Apparate dienen. Im Verkauf befinden sich Platten ohne von unten angeklebte, liniierte, gestrichene Karte, deren Linieren und

dann Ankleben unter die Platte in jedem, sogar kleinen Laboratorium möglich ist. Zum besseren Sichtbarwerden der Teilung muß man nach dem Ankleben auf die untere Oberfläche der Glasplatte das Papier mit Fett durchtränken. Jedes Quadrat entspricht 1 qcm. Die Not erzeugt Erfindungen. Mein Apparat genügt wirklichen Bedürfnissen, und beanspruche ich für ihn nicht den Namen einer Erfindung, doch kann ich ihn den Bakteriologen als einen praktischen Gegenstand empfehlen.

Die Photogramme sind von meinem Mitarbeiter, Herrn Dominkiewicz, ausgeführt, wofür ich ihm meinen verbindlichsten Dank ausspreche.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

- Beitzke, H.**, Ueber einen Fall von Meningitis, verursacht durch *Bacterium lactis aërogenes*, p. 496.
- Bertarelli, E.**, Ueber den *Bacillus prodigiosus* und die Theorien von der natürlichen Immunität, p. 617.
- De Vecchi, Bindo**, Beitrag zum Studium der Wirkung einiger Organextrakte bei den akuten Infektionsprozessen, p. 577.
- Dworatzky, A.**, Erfahrungen mit der Spenglerschen Formalinmethode zur Reinzüchtung von Tuberkelbacillen aus Bakteriengemischen, p. 626.
- Fischer, H.**, Die Bedeutung der Agglutination zur Diagnose der pathogenen und saprophytischen Streptokokken. (Schluß.), p. 597.
- Kartulis**, Gehirnabscesse nach dysenterischen Leberabscessen, p. 527.
- Lingard, A.**, The Trypanosoma of Dourine and its life history, p. 537.
- Marhl**, Beitrag zur Kenntnis der Nagana-infektion bei Meerschweinchen, p. 530.
- Moro, Ernst**, Beiträge zur Kenntnis des Labenzym, p. 485.
- Neumann, R. O.**, Kapseltragende pathogene Streptokokken im Rachennaserraum, p. 481.
- Oestern, Karl**, Beitrag zur Kenntnis der Bakterienflora der erweichten tuberkulösen Herde des Rindes. (Schluß.), p. 498.
- Ottolenghi, D.**, Ueber das Vorhandensein von Komplement im Fibrin, p. 584.
- Rothmann, E. A.**, Glischrobacterium als Ursache der schleimigen Gärung des Menschenurins, p. 491.
- Schüller, Max**, Ueber die Chromatinkörper der Krebs- und Sarkomparasiten des Menschen, p. 547.
- Sellards, A. W.**, Some researches on anaërobic cultures with phosphorous, p. 632.
- Serkowski, Stanislaw**, Ein neuer Nivellierapparat und dessen Anwendung, p. 637.
- Wolf, Alfred**, Ueber Grundgesetze der Immunität. (Fors.), p. 566.
- Zlatogoroff, S. J.**, Zur Morphologie und Biologie des Mikroben der Bubonenpest und des Pseudotuberkulosebacillus der Nagetiere (*Bac. pseudotuberculosis rodentium* Pf.). (Forts.), p. 513.

Nachdruck verboten.

Kurze Mitteilung über eine bei Gänsen beobachtete exsudative Septikämie und deren Erreger.

Von Stabsarzt Dr. **Riemer**,
kommandiert zum Hygienischen Institute der Universität zu Rostock.

Mit 2 Figuren.

Im Mai 1904 brach unter den jungen Gänsen eines Dorfes in der Nähe von Doberan (Mecklenburg) — die Gössel der Dorfbewohner wurden zusammen auf einer Weide gehütet — eine Seuche aus, der ein großer Teil der jungen Tiere und auch eine Anzahl alter Brutgänse zum Opfer fiel. Der Krankheitsverlauf bot nach den Angaben der betroffenen Besitzer wenig charakteristische Merkmale. Als erstes Symptom der Erkrankung wurde eine Abnahme der Freßlust bemerkt, es stellte sich dann eine stetig zunehmende Schwäche ein, welche die Tiere zum häufigen Niedersitzen nötigte, und nach 2—5-tägiger Krankheit erfolgte der Tod.

Eine zweite, ähnliche, ebenfalls nur auf Gänse beschränkte Massenerkrankung trat Mitte September in einem Dorfe in der Nähe von Parchim auf. Auch bei dieser Seuche boten die Krankheitserscheinungen, unter denen die Tiere zu Grunde gingen, wenig Charakteristisches dar. Die Tiere zeigten keine Freßlust, waren sehr matt und hockten teilnahmslos da. Bei einigen soll auch das Absetzen eines dünnbreiigen, hellfarbigen Kotes bemerkt worden sein.

Die Nachforschungen nach Entstehung und Verbreitung der Seuchen haben bei dem verhältnismäßig geringen Interesse der Dorfbewohner für derartige Fragen nur ungenaue Resultate ergeben¹⁾. Bei der ersten wird als Ursache die Einführung von pommerschen Gänsen angeschuldigt, von denen der größte Teil bald nach der Ankunft an einer Krankheit verendet sein soll, deren Charakter nicht festgestellt worden ist, da der Besitzer die Anzeige unterlassen und eine Untersuchung nicht veranlaßt hat. Ein ursächlicher Zusammenhang zwischen diesen beiden Epizootien läßt sich daher nur vermuten. Sichere Angaben über die Zahl der erkrankten und zu Grunde gegangenen Tiere konnten ebenfalls nicht gewonnen werden.

In dem zweiten Falle ließ sich die Entstehung der Seuche wohl mit ziemlicher Sicherheit auf Einschleppung durch einen Gänsetransport aus Berlin zurückführen. In dem betroffenen Dorfe waren kranke Gänse zurückgelassen und auch einige noch gesunde verkauft worden; die ersteren gingen ein, und von den letzteren verendete gleichfalls ein Tier. Nachdem der Transport das Dorf verlassen hatte, benutzten die Dorf-gänse dieselben Weideplätze und Wasserlöcher, in denen sich vorher die fremden aufgehalten hatten, und nach ungefähr 12 Tagen traten die ersten Erkrankungen auf. Es wurden bis zum Tage des Berichtes 12 Gehöfte mit 162 Tieren betroffen, von denen 35 erkrankten und 21 verendeten. Welche Verbreitung die Erkrankungen weiterhin noch nahmen, habe ich nicht erfahren können.

1) Die mitgeteilten Ergebnisse der Ermittlungen über den Krankheitsverlauf bei den Tieren, Entstehung und Verbreitung der Seuchen verdanke ich den lebenswürdigen Bemühungen des Herrn Tierarztes Steinwedel (Rostock) und des Herrn Bezirks-tierarztes Porath (Parchim).

Zur Feststellung der Todesursache und Erforschung der Krankheit wurden dem Hygienischen Institute aus dem ersten Seuchenherde zwei Gössel zur Verfügung gestellt. Der Kadaver des einen kam bei der warmen Witterung bereits in ziemlich faulem Zustande an, so daß sich ein genauer pathologisch-anatomischer Befund nicht erheben ließ. Das andere Tier wurde auf Wunsch noch in krankem Zustande hergebracht und kurz vor dem Verenden getötet, um ein möglichst reines Untersuchungsergebnis zu gewinnen. Aus dem zweiten Seuchenherde kam zunächst zur Feststellung der Diagnose Herz und Leber eines verendeten Tieres und einige Tage später noch ein Kadaver zur Bestätigung des erhobenen Befundes.

Im folgenden seien die Sektionsprotokolle wiedergegeben.

Tier I. Es wurde nur die bakteriologische Untersuchung vorgenommen.

Die Aussaaten von Blut und Lebergewebe auf Agar ergaben nach 36-stündigem Aufenthalte im Brutschranke, abgesehen von einigen Verunreinigungen, das Wachstum kleiner, zarter, bei durchfallendem Lichte bläulich schimmernder Kolonien, die von feinen, an Rotlaufbacillen erinnernden Stäbchen gebildet waren.

Tier II. Die Sektion des ungefähr 6 Wochen alten Gössels ergab folgendes:

Nach Eröffnung der Bauchhöhle sah man auf der Leberoberfläche einen zarten, leicht anhaftenden fibrinösen Belag. Die Oberfläche der übrigen Baueingeweide war glatt und spiegelnd, freie Flüssigkeit in der Bauchhöhle nicht vorhanden. Der Herzbeutel enthielt eine geringe Menge trüben, serösen Exsudates; auf dem Epikard fanden sich zarte Fibrinfäden. An Lunge, Herz, Leber, Milz, Nieren und Magendarmkanal konnten makroskopisch krankhafte Veränderungen nicht wahrgenommen werden. Blutaustritte waren in der Muskulatur und den serösen Häuten nicht vorhanden.

Im Ausstrichpräparat vom Blute, den Exsudaten und sämtlichen inneren Organen fanden sich jene kleinen Stäbchen rein vor. Aussaaten auf Agar ergaben ihr Wachstum in Reinkultur.

Tier III. Herz und Leber einer ausgewachsenen Gans, die in vorgeschrittener Fäulnis ankamen.

Im Ausstrichpräparat von Blut und Lebergewebe fanden sich neben zahlreichen anderen Bakterien auch jene bei den ersten Fällen erwähnten feinen Stäbchen. Eine Reinzüchtung derselben gelang infolge der starken Verunreinigung der Gewebe nicht mehr.

Tier IV. Der Sektionsbefund bei dem noch ziemlich frischen Kadaver war folgender:

Das Tier befand sich in gutem Ernährungszustande. Das Unterhautfettgewebe hatte eine rötliche Farbe, die Brustmuskulatur ein tief dunkelrotes Aussehen. Die Bauchhöhle enthielt kein flüssiges Exsudat. Auf der Leberoberfläche fand sich eine dünne fibrinöse Schwarte, die sich mit der Pincette abheben ließ, im Herzbeutel eine geringe Menge einer trüben serösen Flüssigkeit. Die Blutgefäße des Darmes waren stark injiziert. An Lungen, Herz, Leber, Milz, Nieren und Darmkanal ließ sich makroskopisch nichts Krankhaftes wahrnehmen. Blutungen in die Muskulatur und in die serösen Häute fehlten.

Die bakteriologische Untersuchung ergab, wie bei den anderen Tieren, das Vorhandensein der Stäbchen im Blute, in den Exsudaten und allen

inneren Organen. Sie ließen sich daraus durch Aussaat auf Agar in Reinkultur gewinnen.

Infolge der ziemlich weiten Entfernung der Seuchenherde vom Institute und der Schwierigkeiten, die das Versenden von Kadavern in der warmen Jahreszeit mit sich bringt, war es leider nicht möglich, die obigen Befunde durch die Sektion von womöglich allen verendeten Tieren zu bestätigen. Aber auch jene 4 angeführten Fälle ermöglichten es bereits, ein Bild von der Krankheit und ihrer Ursache zu entwerfen.

Die Schlüsse aus den angeführten Befunden können um so mehr Anspruch auf richtige Erkenntnis der charakteristischen Merkmale der Krankheit machen, als die Beobachtungen bei zwei Seuchen, die zu verschiedener Zeit und in verschiedenen Orten auftraten, und bei Tieren von verschiedenem Lebensalter angestellt worden sind. Man fand makroskopisch in beiden Fällen die gleichen pathologisch-anatomischen Veränderungen; bei beiden stand im Vordergrund eine ausgesprochene Periepicarditis und Perihepatitis, während sonstige krankhafte Veränderungen an den inneren Organen nicht wahrnehmbar waren.

Dieselbe Uebereinstimmung ergab auch die bakteriologische Untersuchung. In allen 4 Fällen — in einem allerdings infolge von vorgeschrittener Fäulnis nur durch Ausstrichpräparat — ließ sich im Blut, in den Exsudaten und inneren Organen ein Mikroorganismus nachweisen, der sowohl durch sein Vorhandensein in großer Zahl, als auch durch die Verbreitung im Tierkörper die Annahme rechtfertigte, daß in ihm die Ursache der Erkrankung zu suchen sei.

Die morphologischen und biologischen Eigenschaften des Erregers.

Mikroskopisches Aussehen (vergl. Fig. 1 u. 2). In den Organen des Tierkörpers findet man meist feine Stäbchen von $0,3-1\ \mu$

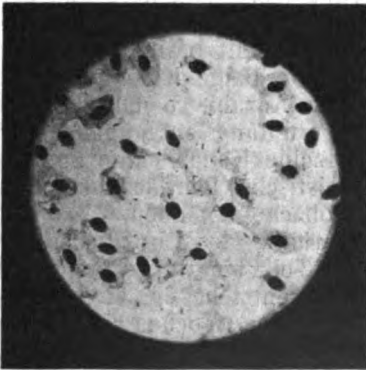


Fig. 1. Ausstrichpräparat vom Herzblut. Vergr. 750.

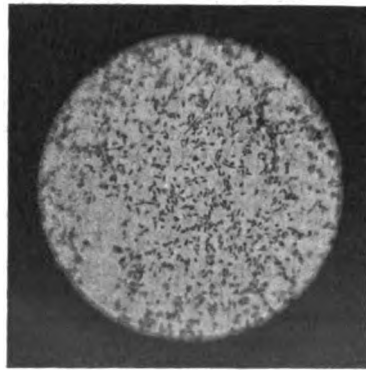


Fig. 2. Ausstrichpräparat von einer Reinkultur. Vergr. 750.

Länge und $0,1\ \mu$ Breite, die häufig zu zweien hintereinander liegen. Die Trennung solcher Doppelformen stellt sich in verschiedener Deutlichkeit dar und zeigt die Uebergänge von einer nur seichten Einkerbung bis zur vollständigen Abschnürung (Teilungerscheinung). In frischen, üppig gewachsenen Agar- und Bouillonkulturen beobachtet man auch

reichliche Fadenbildung. Bei einige Tage alten Kulturen tritt, namentlich beim Aufenthalte im Brutschranke, ein rascher Zerfall der Bakterien ein. Man sieht im Ausstrichpräparat fast nur noch kokkenähnliche Gebilde, die noch leidlich gut gefärbt erscheinen und eine Verunreinigung vortäuschen können.

Die Färbung ist leicht mit den gewöhnlichen Anilinfarben zu erreichen. Bei der Behandlung nach Gram tritt Entfärbung ein.

Eigenbewegung und Geißeln fehlen.

Sporenbildung wurde nicht beobachtet.

Anforderung an Nährböden, Temperatur und Sauerstoff.

Das Wachstum ist gut bei schwach alkalischer Reaktion des Nährbodens, geringe Säuerung wirkt hemmend, stärkere hebt es vollständig auf. Die Kulturen sind von verhältnismäßig kurzer Lebensdauer. Nach 14 Tagen bis 3 Wochen, bei Aufenthalt im Brutschrank schon viel früher, sind die Stäbchen bereits abgestorben. Zur Erhaltung ist daher eine häufige Uebertragung auf frische Nährböden notwendig. Das Temperaturoptimum liegt bei $37,5^{\circ}\text{C}$. Bei einer Temperatur unter 15°C tritt Wachstum nicht mehr ein. Vollständiger Sauerstoffabschluß verhindert die Entwicklung.

Wachstum auf Gelatine. Die Gelatine ist für den Mikroorganismus kein besonders günstiger Nährboden. Eine Ursache für das mangelhafte Fortkommen in ihr liegt wohl in der niederen Temperatur, bei der sie verwendet werden muß. Bei eintretendem Wachstum beginnt eine langsam fortschreitende Verflüssigung des Nährbodens. Die Gelatineplatte zeigt nach 2—3tägigem Stehen bei makroskopischer Betrachtung als erstes Zeichen der Bakterienentwicklung kleine Einsenkungen auf der Oberfläche, die erst deutlich sichtbar werden, wenn man schräg auf den spiegelnden Nährboden blickt. Am Grunde dieser kleinen Vertiefungen läßt sich mit bloßem Auge kaum ein Bakterienwachstum feststellen. Erst bei schwacher Vergrößerung sieht man dort eine gelbliche, glattrandige Kolonie mit feingranulierter Oberfläche liegen, die eine runde oder auch ovale, unregelmäßige Gestalt besitzen kann und ein wenig charakteristisches Aussehen hat. Derartige Kolonien finden sich trotz reichlicher Aussaat nur in geringer Anzahl, so daß man wohl annehmen kann, daß sie aus einem der Verteilung entgangenen Bakterienhaufen entstanden sind, und daß einzelne Keime kaum zur Entwicklung gelangen. Deutliche und charakteristische Oberflächenkolonien habe ich trotz vieler Bemühungen nicht beobachten können.

Im Gelatinestich zeigt sich im Verlaufe des Impfstiches nach einigen Tagen, hauptsächlich nur im oberen Teil, ein weißer, uncharakteristischer Pilzrasen. An der Einstichstelle entsteht ein kleiner Verflüssigungstrichter, und nach Verlauf von einigen Wochen ist fast die ganze Gelatinemasse verflüssigt, wenn die Temperatur nicht zu niedrig gehalten wird.

Der Gelatinestrich läßt gleichfalls eine deutliche Verflüssigung längs des Impfstiches erkennen. In der verflüssigten Gelatine, die meist eine zähe Konsistenz behält, schwimmt als weißes zartes Häutchen die Bakterienmasse.

Der Ausstrich auf Agar zeigt meist kein sehr üppiges Wachstum, namentlich nicht bei der ersten Aussaat aus dem Tierkörper. Nach 24 Stunden findet sich makroskopisch ein zarter, grauweißer, bei durchfallendem Lichte bläulich schimmernder Rasen, der beim Abheben mit

der Platinnadel oft eine fadenziehende, schleimige Beschaffenheit erkennen läßt. Einige Tage alte Pilzrasen verlieren die grauweiße Färbung und nehmen ein durchsichtiges, glasiges Aussehen an. Man findet in diesem Zustande mikroskopisch fast nur jene bereits oben erwähnten kokkenähnlichen Gebilde, die das Abgestorbensein der Bakterienmasse anzeigen. Bei schwacher Vergrößerung stellen sich die Kolonien als glattrandige, durchsichtige Gebilde mit homogener Oberfläche dar, die bei schräger Beleuchtung eine gewisse Ähnlichkeit mit Kolonien von Rotlaufbacillen besitzen, sie jedoch an Ueppigkeit übertreffen.

Im Agarstich tritt hauptsächlich nur im oberen Teile ein deutliches Wachstum ein. Auf der Oberfläche breitet sich die Pilzwucherung als ein zartes Häutchen nach allen Seiten hin aus.

Die Nährbouillon wird zu Anfang gleichmäßig getrübt. Bei einigen Kulturen konnte nach 3 Tagen die Entwicklung eines Häutchens beobachtet werden; bei anderen blieb sie vollständig aus. In der gebildeten Haut fanden sich die Bacillen in langen, miteinander verflochtenen Fäden angeordnet. In Milch- und Traubenzuckerbouillon ist das Wachstum das gleiche. Eine Veränderung der Reaktion tritt bei Milchsuckerbouillon nicht ein, dagegen entsteht in Traubenzuckerbouillon eine geringe Abnahme der Alkaleszenz.

Auf Kartoffeln läßt sich ein Wachstum nicht feststellen. Das Aussehen des Nährbodens bleibt unverändert.

Milch wird nicht koaguliert.

Auf Blutserum, namentlich Löfflerschem, gedeiht der Mikroorganismus am besten. Es entwickelt sich ein ziemlich üppiger, gelblichweißer Rasen; die Bacillen sind länger und kräftiger als auf den anderen Kulturmedien, die erwähnten Doppelformen finden sich hier verhältnismäßig selten. Bei längerem Stehen der ausgewachsenen Kulturen zeigt sich zunächst eine Braunfärbung des Nährbodens, der dann später eine Auflockerung und geringe Verflüssigung folgt.

Auf dem v. Drigalski-Konradischen und Endoschen Nährboden bleibt das Wachstum aus.

Chemische Leistungen: Vergärung des Traubenzuckers unter Gasbildung tritt nicht ein. Oft läßt sich bei Bouillonkulturen durch Bleipapier eine deutliche Schwefelwasserstoffbildung feststellen. Die Intensität ist nach meinen Beobachtungen jedoch nicht konstant. Indolbildung findet auch nicht immer statt. Wenn sie vorhanden ist, läßt sie sich nur bei älteren Kulturen in Spuren nachweisen.

Die Widerstandsfähigkeit gegen äußere Schädlichkeiten ist im ganzen gering. Eine 5 Minuten lang einwirkende Temperatur von 56° C tötet 24 Stunden alte Agarkulturen ab. Auch das diffuse Tageslicht wirkt stark schädigend.

Infektionsversuche und pathogene Bedeutung des Mikroorganismus.

Um die ursächliche Bedeutung des eben beschriebenen Bakteriums für die Krankheit zu beweisen, wurden folgende Infektionsversuche an einheimischen und fremden (russischen?) Gänsen angestellt, und zwar erfolgte die Einverleibung des Impfstoffes subkutan, intramuskulär und durch Fütterung. Die beiden ersten Infektionswege führten ausnahmslos nach 36—72 Stunden den Tod der Versuchstiere herbei. Die beobachteten Krankheitserscheinungen bestanden in Abnahme der Freßlust und lang-

sam zunehmender Schwäche. Die Tiere sahen struppig aus, trugen Kopf und Hals eingezogen und saßen viel.

Von den ausgeführten Infektionen seien zwei angeführt.

Eine mit einer Agarkulturabschwemmung in den rechten Brustmuskel geimpfte Gans ging nach 36 Stunden ein.

Bei der Sektion fanden sich folgende Veränderungen: Das Unterhautfettgewebe der ganzen rechten Körperhälfte zeigte eine intensive Gelbfärbung und eine starke sulzige Infiltration. Der rechte Brustmuskel hatte eine grauweiße, ins Gelbliche spielende Farbe und bot ein dem gekochten Fleische ähnliches Aussehen dar. Die Leberoberfläche zeigte einen leichten sammetartigen Ueberzug. Das Bindegewebe unterhalb des Brustknochens wies eine ähnliche sulzige Infiltration wie das Unterhautzellgewebe auf. Der Herzbeutel enthielt ungefähr 2 ccm eines gelblichen gelatinösen Exsudates. An den inneren Organen ließen sich sonst makroskopisch krankhafte Veränderungen nicht bemerken. Durch Ausstrichpräparat und durch Kultur wurde im Blute, den Exsudaten und sämtlichen inneren Organen der einverleibte Mikroorganismus in Reinkultur nachgewiesen.

Ein anderes subkutan mit 2 Oesen Bakterienmasse auf dem Rücken infiziertes Tier verendete nach 3-tägiger Krankheit.

Auch hier zeigte der Muskel unter der Impfstelle eine gelblichgraue Verfärbung. Statt des sulzigen Oedems fand sich im Unterhautzellgewebe und auf der Muskeleoberfläche ein trockenes fibrinöses Exsudat. Die Leberoberfläche hatte keinen vollständigen Fibrinüberzug, sondern war nur mit einzelnen Flöckchen bedeckt. Im Herzbeutel fand sich ein trübes, seröses, Fibringerinnsel enthaltendes Exsudat. Wie oben konnte auch hier der Mikroorganismus in Reinkultur überall nachgewiesen werden.

Bei näherer Betrachtung dieser Sektionsbefunde fällt auf, daß die Perihepatitis nicht in der Ausbildung zu tage trat, wie sie bei den spontan verendeten Tieren zur Beobachtung kam. Der Grund für diese Erscheinung ist wohl darin zu suchen, daß ziemlich hohe Dosen zur Infektion verwendet wurden und infolgedessen der Prozeß so schnell mit dem Tode endigte, daß es nicht zur Ausbildung einer festen Fibrinschwarte auf der Leberoberfläche kommen konnte. Daß eine beginnende Exsudation auch auf einer scheinbar unveränderten Leberoberfläche vorhanden war, konnte aus der Anwesenheit von Bakterien auf derselben geschlossen werden. Der Abstrich von einer solchen ergab das Wachstum des Mikroorganismus in Reinkultur, während sich ein peritonealer Abstrich von der Darmoberfläche als frei von Bakterien erwies. Die Pericarditis zeigte ein ziemlich konstantes Verhalten und stimmte mit der bei der natürlichen Infektion beobachteten gut überein. Es ergibt somit eine Vergleichung der Sektionsbefunde bei natürlicher und künstlicher Infektion eine fast völlige Uebereinstimmung des pathologisch-anatomischen Krankheitsbildes, bei dem natürlich die Veränderungen an der Impfstelle außer Betracht bleiben müssen. In allen Fällen konnte die Ursache der Krankheit in Gestalt des Erregers in Reinkultur nachgewiesen werden.

Durch Fütterung gelang es nicht, ausgewachsene Gänze zu infizieren, trotzdem reichliche Mengen Bouillonkultur dazu verwandt wurden. An jungen Tieren konnten diese Versuche leider nicht ausgeführt werden. Es ist nicht undenkbar, daß wenigstens die Gössel infolge ihrer geringen Widerstandskraft für diesen Infektionsweg empfänglich sind.

Von anderen Wasservögeln wurden noch Enten zu Versuchszwecken benutzt.

Nach der intramuskulären Injektion einer Agarkulturabschwemmung ging eine ungefähr 8 Wochen alte Ente in 2½ Tagen ein. Die Sektion ergab dieselben pathologischen Veränderungen, wie sie bei den Gänsen beschrieben sind, vor allem auch eine deutliche fibrinöse Perihepatitis. Der injizierte Bacillus fand sich in Reinkultur im Blute und in den Organen vor. Von 3 ausgewachsenen Enten erlag nur eine der intramuskulären Infektion. Das Tier verendete nach 3-tägiger Krankheit. Es fand sich bei der Sektion eine eiterige Peritonitis und Pericarditis. Da der Kadaver schon einen Tag gelegen hatte, bevor er seziiert werden konnte, so ergaben die Aussaaten von Teilchen aus den inneren Organen keine vollständige Reinkultur, sondern nur die des peritonitischen und perikarditischen Eiters. Wie zu erwarten war, schlug die Infektion durch Fütterung auch bei Enten fehl.

Die Infektionsversuche bei unseren gewöhnlichen Versuchstieren hatten folgendes Ergebnis:

Weißer Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen blieben bei subkutaner und intraperitonealer Einverleibung von selbst großen Dosen gesund; bei letzteren wurde auch die intravenöse Injektion von Kulturabschwemmungen ohne Erfolg versucht. Hühner und Tauben verhielten sich gleichfalls refraktär. Besondere lokale Entzündungserscheinungen oder Absceßbildung kamen nirgends zur Beobachtung.

Das Resultat dieser Infektionsversuche läßt sich kurz dahin zusammenfassen, daß der Mikroorganismus eine starke Pathogenität für Gänse und eine geringere für Enten besitzt.

In der mir zu Gebote stehenden Literatur finden sich nur wenige Veröffentlichungen über Erkrankungen unter Gänsen und anderen Wasservögeln.

Das Handbuch der speziellen Pathologie und Therapie der Haustiere von Friedberger und Fröhner enthält den Hinweis auf eine Arbeit über eine Gänseseptikämie aus dem Journ. of comparative Pathology and Therapeutics. 1902 von Fadyean. Leider hatte ich nicht Gelegenheit, das Original zu lesen. Ich muß mich daher darauf beschränken, die vorhandene kurze Notiz darüber zu erwähnen. Die Gänse sollen an einer ½ Stunde bis einige Tage dauernden Krankheit, die mit Darmentzündung einherging, zu Grunde gegangen sein. Als Ursache wurde ein cylindrisches Stäbchen, in Gestalt und Größe dem Schweine-rotlaufbacillus gleichend, gefunden, das nur für Gänse pathogen war. Diese Angaben sind nicht ausreichend, um entscheiden zu können, ob diese Krankheit und ihr Erreger mit der oben beschriebenen übereinstimmt.

Im Jahre 1888 wurde von Cornil und Toupet (Compt. rend. de l'acad. des sciences de Paris) der Erreger einer Entenseuche beschrieben, der die Tiere unter Diarrhöe, zunehmender Schwäche und Muskelzittern nach 2—3 Tagen tötete. Die Eigenschaften dieses Mikroorganismus zeigen jedoch eine Reihe von wesentlichen Abweichungen gegenüber den oben angeführten. Seine größere Länge und Dicke, die Möglichkeit der bipolaren Färbung, die fehlende Verflüssigung der Gelatine und das üppige Kartoffelwachstum lassen wohl schon eine Identität beider Erreger als ausgeschlossen erscheinen. Außerdem bieten auch die patho-

logischen Veränderungen im Tierkörper ein vollkommen anderes Bild dar. Im Vordergrund des Krankheitsbildes steht eine ausgebreitete Ecchymosierung des Perikards und oft auch der peritonealen Darmschleimhaut, ferner eine Kongestionierung der Darmschleimhaut, besonders der des Dickdarmes.

Ferner hat über den Erreger einer hämorrhagischen Septikämie der Schwäne und ägyptischen Gänse Fiorentini 1896 berichtet (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIX. p. 932).

Der Mikroorganismus wird als ein bewegliches, $1,5-2\ \mu$ langes und $0,5\ \mu$ dickes, sich bipolar färbendes Stäbchen geschildert, das sehr üppig auf Kartoffeln gedeiht, die Gelatine nicht verflüssigt und schon bei Zimmertemperatur ein kräftiges Wachstum zeigt. Wenn es schon durch diese Wachstumseigentümlichkeiten von dem beschriebenen *Bacillus* abweicht, so ist noch ein weiteres unterscheidendes Merkmal in seiner hohen Pathogenität für Kaninchen, Meerschweinchen, Hühner und Tauben gegeben. Ferner sind auch die Veränderungen, die er im Tierkörper hervorruft, ganz anderer Art. Es findet sich eine starke Ecchymosierung der serösen Häute, eine Hyperämie der Darmschleimhaut, eine ödematöse Infiltration der Lungen bei jungen, und eine fibrinöse Pneumonie bei älteren Tieren.

Außer diesen Massenerkrankungen unter Wasservögeln sind noch eine ganze Reihe von Bakteriämien bei anderem Geflügel beobachtet und beschrieben worden, aber mit keinem der isolierten Erreger ließ sich unser *Bacillus* identifizieren.

Die Ähnlichkeit im Aussehen berechtigt zu einer Vergleichung des Mikroorganismus mit dem *Bacillus* des Rotlaufes; doch besitzt dieser eine Reihe von abweichenden Wachstumseigentümlichkeiten (Färbbarkeit nach Gram, typisches Gelatine- und Agarwachstum) und von pathogenen Eigenschaften (kräftige Virulenz für Mäuse, Kaninchen, Tauben, fehlende für Gänse und Enten), so daß eine Identität oder auch nur Artverwandtschaft kaum angenommen werden kann.

Auch ein Versuch, den Mikroorganismus in die Gruppe des *Bact. septicæm. hæmorrhag.* einzureihen, stößt auf erhebliche Schwierigkeiten. Schon das mikroskopische Aussehen beider Bakterienarten ist sehr verschieden voneinander. Eine Ähnlichkeit besteht nur bei schlecht gewachsenen Agarkulturen unseres *Bacillus*, in denen die einzelnen Stäbchen sehr kurz erscheinen und sich in der Form dem *Bac. suis-septicus* nähern. Ferner wächst letzterer in Gelatine gut und verflüssigt sie nicht. Am auffallendsten ist auch hier wiederum der Unterschied in ihrem pathogenen Verhalten. Es besitzt das *Bact. septicæm. hæmorrhag.* für Mäuse, Kaninchen und Meerschweinchen eine hohe Virulenz. Selbst durch Agglutination läßt sich eine Verwandtschaft nicht erweisen. Ein mit dem beschriebenen *Bacillus* hergestelltes Tierimmunserum wirkt z. B. nicht agglutinierend auf den *Bac. suis-septicus* ein.

Aus den angeführten Vergleichen läßt sich als Ergebnis der Schluß ziehen, daß der beschriebene Mikroorganismus als ein für sich stehender, wohl charakterisierter Krankheitserreger zu betrachten ist und vorläufig einer besonderen Gruppe nicht beigeordnet werden kann. Der Name *Bacillus septicæmiæ anserum exsudativæ* dürfte zur Bezeichnung und der Name *Septicæmia exsudativa anserum* zur Benennung des von ihm erzeugten Krankheitsbildes zweckmäßig sein.

Nachdruck verboten.

Ueber veränderte Eigenschaften des Bacillus anthracis.

[Aus dem Institute für pathologische Anatomie an der königl. Universität Catania.]

Von Prof. G. Scagliosi.

Durch die Untersuchungen von Perroncito¹⁾ u. a. ist bekannt, daß die Milzbrandsporen Jahre lang lebensfähig bleiben und ihr Fortpflanzungsvermögen beibehalten können.

Ich habe seit dem Jahre 1894 sterilisierte Seidenfäden aufbewahrt, welche mit sporenreichen Milzbrandbacillen durchfeuchtet und unter einer Sterilisation, dem diffusen schwachen Lichte ausgesetzten Glasglocke angetrocknet wurden. Der von mir zur Durchtränkung angewandte Milzbrandstamm war höchst virulent, er tötete 150–300 g wiegende Meerschweinchen spätestens innerhalb 48 Stunden.

Ich habe die Seidenfäden folgendermaßen mit dem Kulturmateriel getränkt: Ich habe viele Agarstrichkulturen hergestellt und dieselben in einen Thermostaten bei einer Optimaltemperatur (37° C) gelegt, bei welcher die Sporulation rascher stattfindet und in ca. 20 Stunden fast vollendet ist. Die bei 37° C gebildeten Sporen besitzen, wie bekannt, auch eine größere Widerstandsfähigkeit als die bei 18°, 24° oder 31° C entstandenen. Ich habe mich auch damals eines frisch hergestellten Agarnährbodens bedient, weil ich schon die Beobachtung gemacht hatte, daß die sporenbildenden Bakterien auf frischen Nährböden besser und schon in wenigen Stunden sporulieren.

Ich habe ferner die sporentragende, grauweißliche Auflagerung auf Agar vorsichtig abgehoben und mit dem auf diese Weise gewonnenen Material eine wässrige, etwas dicke Emulsion in sterilisiertem und destilliertem Wasser vorbereitet, in welche ich dann die Seidenfäden eingetaucht habe.

Da das diffuse Licht im Stande ist, die meisten Bakterien in ihrer Entwicklung zu stören, sogar zu hemmen, so habe ich die angetrockneten Seidenfädchen in einem weiten, sterilisierten Reagenzglas im Dunkeln aufbewahrt.

Auf diese Weise habe ich mich in den günstigsten Stand gesetzt, widerstandsfähige, wohlausgebildete, haltbare und zahlreiche Sporen zu erhalten. Außerdem habe ich mein ganzes Bestreben auf möglichste Vermeidung aller jener Faktoren gerichtet, welche auf die Haltbarkeit der Dauerformen von Einfluß sind.

Wenden wir uns nun zuerst zu den veränderten biologischen Eigenschaften, welche dieser Milzbrandstamm nach 10 Jahren gezeigt hat.

In Bouillon ist das Wachstum sehr langsam. Nach 24 Stunden bemerkte man eine kaum sichtbare Trübung des Nährmediums und nach 2 Tagen kleine, sehr dünne und ganz vereinzelte Flöckchen, welche niemals zu langen Fäden, wie in anderen Milzbrandstämmen, d. h. in normalen Exemplaren, auswachsen und welche sich bei einer leichten Erschütterung des flüssigen Nährsubstrates schnell auflösen und verschwinden.

1) R. accademia di medicina di Torino, Sitzung am 2. Juli 1897. (Il Policlinico. 1897.)

In der Gelatinestichkultur ist das Wachstum längs des Impfstiches, nämlich die Bildung eines dicken, weißen Fadens, nicht nachweisbar; die zarten, kurzen Ausläufer, welche normalerweise rechtwinkelig von dem Impfstiche nach allen Richtungen in die Gelatine regelmäßig hineinwachsen, sind auch nicht in den obersten Partien des Impfstiches zu sehen, so daß der sogenannte Haarbesatz vollständig fehlt. Die Gelatineverflüssigung beginnt später, sie findet nach ca. 7—8 Tagen statt; sie ist anfangs nur durch eine geringe Einziehung der Gelatineoberfläche und später durch eine veränderte optische Beschaffenheit des verflüssigten Nährmediums charakterisiert, indem die schon verflüssigte Gelatine, wenn man die dementsprechenden Kulturen gegen das Licht hält, durchscheinender aussieht als die noch feste, mehr am Rande befindliche Gelatine. Die Form der Verflüssigung hat keine wahrnehmbare Abänderung erfahren; die verflüssigte Gelatine zeigt zu keiner Zeit Trübung und am Boden des Verflüssigungsraumes eine kaum sichtbare Ablagerung.

Auf Agar bildet dieser Milzbrandstamm langsam einen dünnen, grau-weißlichen Ueberzug, welcher ganz auf die gemachten Striche beschränkt bleibt.

Nichts Nennenswertes bei Kulturen auf anderen Nährmedien, wenn man die Trägheit der Entwicklung davon ausnimmt.

Betreffs der morphologischen Eigenschaften dieser Milzbrandbacillen habe ich beobachtet, daß dieselben niemals lange Fäden bilden, sondern daß sie sich zu 2 oder 3, selten zu mehreren Individuen vereinigen.

Das Längenmaß derselben, sowohl im Tierkörper wie in Bouillonkulturen, ist sehr klein; sie zeigen im Mittel eine Länge von 1,60—2,13 μ und eine Breite von $\frac{1}{3}$ —1 μ .

Ich habe ferner die Agglutinabilität dieses Milzbrandstammes mit der Agglutinationskraft des Serums von *Scavo* geprüft, weil ich durch die fehlende Bildung langer, wohlausgebildeter Fäden besonders in den Bouillonkulturen annehmen durfte, daß ein günstiger Umstand für das Agglutinationsstudium dieses abgeschwächten Milzbrandstammes, welcher keine spontane Agglutination gezeigt hat, vorlag. In der Tat habe ich bei einer Verdünnung von 1 : 50 bis 1 : 100 eine starke Agglutinierbarkeit schon nach ca. $\frac{1}{2}$ Stunde eintreten sehen.

Um den Pathogenitätsgrad dieses Milzbrandstammes zu prüfen, erhielten 3 Meerschweinchen mit der Kochschen Gummiballinjektionsspritze je 1 ccm einer 3-tägigen Bouillonkultur; diese Tiere, von 250 bis 300 g Körpergewicht, gingen innerhalb 72—96 Stunden zu Grunde. Bei der Autopsie wurden alle anatomischen Kennzeichen beobachtet, welche der hämatogenen Milzbrandinfektion eigen sind; das Oedem des Unterhautzellengewebes war aber nur um die Impfstelle umschrieben.

Diese Veränderungen der kulturellen und morphologischen Eigenschaften dieses Milzbrandstammes müssen unbedingt den bei den Sporen nicht ganz genau bekannten chemischen Veränderungen derselben zugeschrieben werden. Diese chemischen Veränderungen der Sporen haben aber zur Zeit meiner Beobachtungen gewiß nicht einen so hohen Grad erreicht, daß die Auskeimungsfähigkeit ganz verloren gegangen ist. In der Tat haben diese Sporen, wenn sie in gute Temperatur- und Nährmediumsverhältnisse versetzt worden sind, ausgekeimt und einer Rasse von reduzierter Lebensfähigkeit und Pathogenität Ursprung gegeben. Die Veränderung der physiologischen Tätigkeit dieses Milzbrandstammes ergibt sich auch aus dem kümmerlichen

Wachstum und der unvollständigen Klarheit der charakteristischen Merkmale des Auskeimens und der Reproduktion dieser Milzbrandbacillen auf den verschiedenen Nährmedien. Man hat nicht nur eine Abänderung der kulturellen Eigenschaften, sondern auch eine außerordentliche Trägheit in der Entwicklung derselben auf den gewöhnlichen Nährsubstraten beobachtet.

Verschieden müssen die Ursachen sein, welche dieser Veränderung der kulturellen Eigenschaften dieses Milzbrandstammes, von dem hier die Rede ist, Veranlassung gegeben haben können.

Ich werde unter den vielen äußeren Faktoren, welche für sich allein oder gleichzeitig gewirkt haben können, die einzelnen Konten voneinander zu trennen versuchen.

Zuerst will ich den Feuchtigkeitsgrad der Luft berücksichtigen, welcher, wie aus zahlreichen Untersuchungen bekannt ist, manchmal zerstörend auf die Bakterien einwirken kann.

Der Trockenheitszustand der Seidenfäden, an denen die Sporen bei meinen Versuchen haften geblieben sind, variiert je nach der Fähigkeit, welche die Seidenfäden besitzen, mehr oder weniger Wasser aus der umgebenden Luft aufzusaugen und je nach dem Quantum des in der Luft anwesenden Wassers.

Diese Einsaugungsfähigkeit der Seidenfäden in unserem Falle mußte infolge der vorherigen Behandlung der Seidenfäden gewiß zum größten Teile verloren gegangen sein, weil man logisch annehmen muß, daß die mit sterilem destillierten Wasser gemachte Emulsion ein, wenn auch minimales, so doch immer vorhandenes Quantum von eiweißhaltigen Substanzen enthält, welche aus dem Nährboden hervorgegangen sein müssen. Nach der Austrocknung der Seidenfäden hat sich also eine eiweißhaltige Schicht auf der Oberfläche derselben gebildet, welche den Einsaugungswert derselben gegen das atmosphärische Wasser gewiß vermindert, wenn auch nicht aufgehoben hat. Dieser Umstand einer relativen, wenn auch nicht absoluten Trockenheit der Seidenfäden läßt die Sporen sehr hohe und dauernde Kältegrade ertragen, weil die Widerstandskraft gegen Kälte und Wärme bei den Pflanzen im allgemeinen um so größer ist, je wasserärmer die Zellen sind, wie dies die Resistenz gegen Kälte der lufttrockenen Samen, deren Zellen fast rein protoplasmatisch sind, hinlänglich erklärt. In Palermo sind selten und nur für einige Stunden während des Winters Nachttemperaturen wahrzunehmen, die sich um 0° herum bewegen, deshalb hat die Kältestarre, wenn sie sich auch bei dieser Temperatur einstellte, nicht bis zum Eintritt des Kältetodes gedauert; die folgende Erhöhung der Temperatur läßt dagegen die gehemmten Lebensphänomene zur Norm zurückkehren. Der Starrezustand hält also nicht lange Zeit an und der Tod der Spore kann absolut nicht herbeigeführt werden.

Bei dem Studium der Wirkung der Trockenheit auf die Sporen und der Resistenz dieser letzteren in den verschiedenen Medien muß man die variablen Einsaugungszeichen der Medien, in welche die Sporen zu liegen kommen, in Rechnung ziehen. Die variable Einsaugungsfähigkeit der verschiedenen Substanzen muß zur Dauer des Lebens der Sporen und zur Etablierung von mehr oder weniger geeigneten Bedingungen für die Erhaltung und folglich für die Wiederholung der charakteristischen kulturellen und morphologischen Eigenschaften stark beitragen, wenn die Sporen in stand gesetzt werden, auszukeimen.

Die Seidenfäden haben daher wegen der eiweißhaltigen Schicht,

welche sie bedeckt, fast kein Wasser aus der Luft in sich eingesaugt, die Sporen sind also in einem trockenen Medium liegen geblieben und haben sich deshalb unter besseren Widerstandsverhältnissen befunden.

Ein anderer Umstand, welcher bei dem Resistenzurteile der Sporen in Betracht gezogen werden muß, ist die wärmeleitende Eigenschaft der Gegenstände, in welche die Sporen zu liegen kommen. Man muß annehmen, daß bei unseren Sporen, wenn auch die Seide eine erhebliche Wärme erlangen konnte, keine Aenderung ihres Plasmas eingetreten ist, welche bei dem Wassergehalt der Gegenstände viel leichter von statten geht als in völlig trockenem Zustande. Die Lufttemperatur erreicht aber niemals solche Grade, welche einen unmittelbaren Einfluß durch die Erwärmung der Gegenstände, auf die trockenen Sporen haben können.

Ich berücksichtige die Wirkung des Lichtreizes nicht, weil meine Fäden nur auf die Dauer von 12 Stunden dem diffusen schwachen Tageslicht ausgesetzt wurden und weil die Intensität des Lichtes keinen schädigenden Einfluß auf die Sporen ausüben kann.

Ich unterlasse es, die mechanischen Reize (Druck, Erschütterung, Quetschung) zu erwägen, welche auf das Plasma gewirkt haben können, weil dieselben in meinem Falle so außerordentlich schwach gewirkt haben müssen, wenn sie überhaupt gewirkt haben, daß es gerechtfertigt ist, sie als nicht existierend zu betrachten.

Ich ziehe auch nicht das eventuell verminderte Sauerstoffquantum der umgebenden Atmosphäre in Betracht, weil die Menge des erforderlichen Sauerstoffes ganz gering gewesen sein muß, da eine große funktionelle Tätigkeit den Sporen fehlt und der Sauerstoffverbrauch durch das Maß der Funktion einfach bedingt wird. Eine Vermehrung der Kohlensäureluft kann unter allen Umständen nicht einen so hohen Grad erreichen, daß das Leben der Sporen beeinträchtigt werden konnte.

Ich glaube weiter, die Wirkung des Atmosphärendruckes auf meine Sporen ausschließen zu dürfen, weil in Palermo fast niemals eine erhebliche Erhöhung und Erniedrigung desselben stattfindet, und selbst wenn auch eine vorübergehende Erhöhung desselben stattgefunden hat, dürfte er doch keinen Einfluß auf die Sporen haben, welche, wie bekannt, dadurch nicht geschädigt werden.

Von sonstigen Einflüssen scheinen etwaige Beimischungen von chemischen Gasen zu der Luft des Schrankes, in welchem die Seidenfäden gelegen haben, wie dies manchmal in einzelnen Anstalten der Fall sein kann, keinen merklichen Einfluß auf das Leben der Sporen ausgeübt zu haben. In der Tat, abgesehen von der Lage der chemischen Abteilung des Laboratoriums, welche weit von der bakteriologischen Abteilung liegt, gebe ich zu, daß chemische Gase bis in die Luft der für die Bakteriologie bestimmten Zimmer gelangt sind, aber diese Gase mußten eine so starke Verdünnung erfahren haben, daß dieselben keine Wirkung mehr auf die im Schranke aufbewahrten Seidenfäden entfalten können und selbst, wenn sie in großer Menge zu den Sporen gelangt wären, mußte ihre Wirkung auf dieselben gewiß ausgeblieben sein, weil die Sporen gegen chemische Agentien und Gase sehr widerstandsfähig sind.

Man darf auch nicht die Veränderung der kulturellen Eigenschaften dieser Milzbrandbacillen, welche sich dadurch von der Stammform unterscheiden, auf Modifikationen des Nährmediums bei Herstellung desselben zuschreiben, da ich dieselbe Formel sowohl damals als auch jetzt angewendet habe.

Es ist demnach nur die Temperatur der Luft in Betracht zu ziehen, welche eine der wesentlichsten Bedingungen für das Leben des Protoplasmas ist. Es gibt eine obere und eine untere Grenze derselben, deren Ueberschreitung in fast allen Fällen den sofortigen Tod des Protoplasmas zur Folge hat. Dieselbe ist nicht immer ein und dieselbe für alle Protoplastmakörper. Das lebende Plasma der Sporen vermag sich eine Zeit lang bei höheren Temperaturen zu erhalten und keimfähig zu bleiben und kann außerordentlich hohe Kältegrade aushalten. Allerdings hat man nur die obere und untere Temperaturgrenze bestimmt, durch welche unmittelbar der Kälte- und Wärmetod herbeigeführt wird. Bis jetzt fehlen, so viel ich weiß, Versuche über die Folgen der Wirkung der Temperaturschwankungen auf das Sporenplasma, d. h. über das Verhalten desselben gegen eine Erhöhung oder Erniedrigung der Temperatur, wie sie bei der Aufeinanderfolge der Jahreszeiten stattfindet. Zwischen Kälte- und Wärmestarre liegt ohne Zweifel ein Gebiet, in welchem sich, je nach der Höhe der Temperatur, die Lebensprozesse mit ungleicher Intensität abspielen; diese Prozesse mußten bei den Sporen eine Steigerung während der Zunahme der Lufttemperatur erfahren haben, sie haben aber das Optimum, welches mit einem Temperaturgrad von 37°C zusammenfällt, nicht erreichen können, weil die Lufttemperatur immer mehrere Grade unter dem bezeichneten Temperaturoptimum gelegen ist.

Diese negativen und positiven Temperaturschwankungen, d. h. die Erhöhung und Erniedrigung der Lufttemperatur, welche viele Jahre hindurch auf die an den Seidenfäden haftenden Sporen ihre Wirkung entfaltet haben muß, haben vorübergehend verschiedenartige Zustände des Plasmas zur Folge gehabt, welche endlich zu dem abgeänderten Stamm Veranlassung gegeben haben.

In der Tat wissen wir, daß die Temperaturunterschiede in noch höherem Maße als das Licht die Geschwindigkeit des Wachstums der Froscheier und die Form des Entwicklungsprozesses beeinflussen. Diese Temperaturdifferenzen, Wärme und Kälte, bedingen auch, wie bekannt, nicht nur einen dem momentanen Reize der verschiedenen Temperaturen entsprechenden vorübergehenden Zustand, sondern es etablieren sich auch infolge dieser äußeren Reize dauernde Zustände, welche um so schwerer veränderlich sind, je länger die äußeren Faktoren bestanden haben.

Ich darf den anderen, obgleich minimal wirkenden äußeren Faktoren auch Gewicht beilegen, aber unter den vielen Faktoren, welche gleichzeitig zusammengekommen sind, habe ich oben versucht, ihre einzelnen Konten voneinander zu trennen, und es ergibt sich daraus, daß der größte Faktor, welcher Veränderungen in den Lebensbedingungen dieses Stammes verursacht hat und die veränderten Eigenschaften desselben am besten erklären kann, die variable Lufttemperatur ist.

Wenn man die mittlere Temperatur von Palermo näher betrachtet, so ergibt sich, daß sie während des Winters durchschnittlich 15°C ist und sich nur ausnahmweise während der Nachtfroste um 0° bewegt; sie erreicht im Sommer im Schatten von 10 Uhr vormittags bis 4 Uhr nachmittags $30\text{--}32^{\circ}\text{C}$. Dieser Temperaturwechsel, welcher seit vielen Jahren auf die von mir aufbewahrten Sporen eingewirkt hat, ist meines Erachtens die hauptsächlichste, wenn auch nicht die einzige Ursache der Bildung dieser Varietät von Milzbrandbacillen.

Diese meine Meinung wird auch von den Untersuchungen Hansens¹⁾ unterstützt, der bei dem von ihm studierten Essigsäurebakterium drei verschiedene Formen bei wechselnder Temperatur unterschieden hat.

Aus dem oben Gesagten kann man also schließen, daß der Temperaturwechsel den wichtigsten unter den äußeren Faktoren darstellt, welche die Eigenschaften dieses Milzbrandstammes abgeändert haben, und daß die entsprechenden abgeschwächten Bacillen die Fähigkeit erhalten haben, sich artificiell, d. h. durch Zusatz von Serum, zu agglutinieren.

Nachdruck verboten.

Zur Morphologie und Biologie des Mikroben der Bubonenpest und des Pseudotuberkulosebacillus der Nagetiere (*Bac. pseudotuberculosis rodentium* Pf.).

[Aus dem Laboratorium „Fort Alexander I.“ des Instituts f. experim. Medizin zu St. Petersburg.]

Von Privatdozent Dr. S. J. Zlatogoroff.

(Schluß.)

Einen noch schlagenderen Beweis für die nahe Verwandtschaft der von mir untersuchten Pestkulturen lieferte die Präzipitationsreaktion, welche bekanntlich zuerst von Kraus (im Jahre 1897) beobachtet worden ist. Kraus fand, daß klare Filtrate von Kulturen, mit den entsprechenden spezifischen Seris vermengt, in den vordem klaren Flüssigkeiten Anlaß zu Bildung von Niederschlägen geben, während bei Vermengung mit anderen, nicht spezifischen Seris keine Niederschläge entstehen. Diese spezifischen Krausschen Niederschläge können infolgedessen zur bakteriologischen Diagnose dienen.

Pestheilsera bilden besonders reichliche Niederschläge mit den entsprechenden Pestkulturen (Filtraten). Filtriert man eine Suspension von Pestmikroben in physiologischer Kochsalzlösung oder eine (mehrere Monate alte) Pestkultur, so entstehen bei Vermengung des Filtrates mit einem Pestheilserum mehr oder weniger kopiöse Niederschläge, deren Menge von der Masse der an der Reaktion teilnehmenden Substanzen abhängt. Die Reaktion wird bei Temperaturen von ca. 40° C beschleunigt. Mir standen Filtrate verschiedener Pestkulturen von ein und demselben Alter (4—5 Monate) zur Verfügung, und alle diese Filtrate bildeten mit dem Pestheilserum Niederschläge. Mit Filtraten von andersartigen Mikroben konnte die Reaktion nicht beobachtet werden.

Das genaue Studium von 22 Pestkulturen ergab also, daß sie alle echte Kulturen dieses Bacillus darstellen und in ihren wesentlichen morphologischen und biologischen Merkmalen ganz identisch sind²⁾. Bedenkt man, daß die mir zur Verfügung gestellten Kulturen in verschiedenen Weltteilen im Laufe von nicht zu bezweifelnden Pestepidemien gewonnen worden waren, so kann man, wie ich glaube, be-

1) Berichte d. deutsch. bot. Gesellsch. Bd. XI. 1893. — Compt. rend. du laboratoire de Carlsberg. T. III. Livr. 3. p. 182.

2) Sata (5) untersuchte 4 Pestkulturen, Kollé (6) 19; beide kamen zu demselben Ergebnis.

hauften, daß der Pestbacillus überall denselben Typus zeigt¹⁾, dessen hauptsächlichste Merkmale folgende sind: Der Bacillus ist unbeweglich, färbt sich im Organismus deutlich bipolar, zeigt sehr große Formenverschiedenheit, wächst in Bouillon, ohne sie zu trüben, bildet schon nach 14—16-stündigem Wachstum Ketten, färbt sich nicht nach Gram, verflüssigt die Gelatine nicht, bildet auf Agaragar eine klebrige Membran, zeigt keine Indolreaktion, zersetzt Milch und Zucker nicht, vermehrt sich durch Teilung und zeigt keine Sporenbildung. Von den Nährmedien ist zum Zweck der Diagnose die Bouillon, auf welcher Wachstum und Aussehen des Pestmikroben sehr beständig sind, allen anderen vorzuziehen. Von den Laboratoriumstieren kann zur Stellung der Pestdiagnose am besten das Meerschweinchen dienen.

Die Ergebnisse, zu denen der erste Teil meiner Untersuchungen berechtigt, lassen sich in folgendem zusammenfassen:

1) Als Grundformen des Pestbacillus innerhalb des Organismus sind die ovalen und kokkobacillären anzusehen; die kokkenartigen, geschwänzten und Riesenformen gehören auch zu den normalen, jedoch nur seltener vorkommenden. Der Polymorphismus des Pestbacillus nimmt nach dem Tode des ihn beherbergenden Organismus zu.

2) Alle 22 von mir untersuchten Pestkulturen wiesen die gleichen Grundformen, die gleiche bipolare Färbung auf. Die Größe des Bacillus ist in allen Kulturen, außer der Glasgower, die nämliche. In Strichpräparaten von Tieren, welche nach Infektion mit der Glasgower Kultur gestorben waren, besaßen die Mikroben oft geringere Größe.

3) In Strichpräparaten aus an der Pest zu Grunde gegangenen Tieren zeigen die Bacillen einen granulierten Bau [Ernst-Babessche Körner]²⁾, ganz unabhängig davon, mit welcher Kultur die Tiere infiziert worden waren. Zwischen dem Gehalte an solchen Körnern und der Virulenz der betreffenden Kultur konnte kein Zusammenhang nachgewiesen werden.

4) In keiner der Kulturen nehmen die Bacillen Gramsche Färbung an.

5) Kapseln können (bei entsprechender Färbung) in sämtlichen Kulturen (Strichpräparaten) nachgewiesen werden.

6) Das Temperaturoptimum für das Gedeihen des Pestbacillus liegt bei 30° C; die zuträglichste Reaktion des Nährmediums ist eine für Lackmus schwach alkalische.

7) Beim Vergleich des Wachstums von Pestkulturen in Kalbs-, Fleisch- und Fischbouillon erwies es sich in der Kalbsbouillon am üppigsten.

8) Alle 22 Kulturen bildeten in der Bouillon nach 24—48-stündigem Wachstum (mehr oder weniger große) Flocken, welche sich nur selten in der ganzen Bouillon verbreiteten, wobei sie im letzteren Falle Trübung der Bouillon, welche übrigens bereits am 2. Tage verschwand, vortäuschten. Ketten (*Streptobacillus*) entstanden sehr rasch (nach 16 bis 20 Stunden); die einzelnen Mikroben färbten sich bipolar. Das Wachstum des Pestbacillus in der Bouillon muß als charakteristisches Merkmal derselben angesehen werden.

1) Seinen charakteristischen Merkmalen nach steht der Pestbacillus der Gruppe der Bacillen der sogenannten hämorrhagischen Septikämie am nächsten; von diesen kann er durch sein Wachstum auf Nährmedien und durch das Tierexperiment (cf. Tab. V) unterschieden werden.

2) Die Körner werden nach Fixation mit Osmiumsäuredämpfen und Färbung mit einer alten gesättigten, wässrigen Methylenblaulösung sichtbar.

9) In alten Bouillonkulturen von verschiedener Herkunft ist das mikroskopische Bild sowohl in Bezug auf den Gehalt an Kettengebilden als auch auf den Grad der Färbbarkeit der einzelnen Mikroben ein verschiedenes. Je älter die Kultur ist, desto weniger Ketten enthält sie.

10) Eine Oberflächenmembran bildet sich in den wenigst virulenten Pestbouillonkulturen. Kürzere Ketten kommen nicht selten in den virulenten Kulturen vor.

11) Das Wachstum des Pestbacillus auf Agaragar ist ein verschiedenes und durchaus kein charakteristisches; sie bilden bald eine zarte, durchsichtige, bald eine grobe, ölige Membran. Das mikroskopische Bild, der Polymorphismus des Mikroben, ist ein charakteristischeres.

12) Auf Agaragar mit 3 Proz. Kochsalzzusatz bildeten alle Pestkulturen nach Verlauf eines mehr oder weniger geringen Zeitabschnittes Involutionenformen. Das Wachstum des Pestbacillus auf diesem Nährboden ist oftmals ein sehr spärliches.

13) In alten Agarkulturen macht sich Neigung zur Bildung von Ketten- und Fadengebilden bemerkbar; in verschiedenen Kulturen äußert sie sich in verschiedenem Grade.

14) Gelatineverflüssigung konnte keinmal beobachtet werden; das Wachstum auf Gelatine ist für Pest durchaus nicht charakteristisch.

15) Milch und zuckerhaltige (mit Glykose-, Laktosezusatz) Nährmedien veränderten sich unter Einwirkung von Pestkulturen nicht.

16) Die Indolreaktion fiel mit Pestkulturen stets negativ aus.

17) Die Bacillen waren in sämtlichen Kulturen unbeweglich und zeigten keine Sporenbildung.

18) Bei längerem Wachstum des Pestbacillus wird die Reaktion des Nährmediums eine alkalische; in einigen Fällen findet erst Säure- und erst später Alkalibildung in dem Nährmedium statt.

19) Auf alten, nach längerem Wachstum des Pestbacillus bearbeiteten Nährböden (Filtraten von Bouillonkulturen oder abgetöteten Agarkulturen) gedeiht der Pestbacillus schlecht, was einerseits vom Anwachsen der Alkaleszenz und der wahrscheinlichen Erschöpfung des Nährmediums, andererseits von der Anhäufung schädlicher Stoffwechselprodukte (namentlich in flüssigen Nährmedien) abhängt. Andersartige Mikroben (mit Ausnahme, von denen natürlich, welche eine genau festgestellte Alkaleszenz und derartige Bedingungen mehr erfordern, wie z. B. der *Pneumococcus*) gedeihen auf solchen ausgenutzten Nährmedien sehr gut.

20) Kreuzweise aktive Immunisation sowie passive Immunisation mit einem Heilserum ergab, daß alle Kulturen Pestkulturen waren.

21) Das Pestheilserum agglutiniert¹⁾ und präzipitiert sämtliche Pestkulturen, was als Hilfsmittel für die Diagnosestellung benutzt werden kann.

1) Musehold räumt in seiner Abhandlung: „Die Pest und ihre Bekämpfung“ der Agglutinationsreaktion eine viel zu große Bedeutung für die Differenzierung der Pestbacillen von sonstigen Mikroben ein, und führt folgende einstimmig angenommene Resolution im kais. Gesundheitsamte an: „Es sollten Institute mit der Herstellung von Vaccin (Schutzimpfstoff) gegen Pest sowie von Serum zur Prüfung von Pestkulturen mittels der Agglutinationsprobe beauftragt werden (p. 205)“. Im zweiten Teile meiner Abhandlung findet man Tatsachen angeführt, welche durchaus gegen eine solche unbedingte Bedeutung der Agglutinationsreaktion sprechen.

Der Bacillus der Pseudotuberkulose der Nagetiere.

Seitdem Malassez und Vignal (7) im Jahre 1883 in einem subkutanen tuberkelartigen Gebilde bei einem Kinde, welches an tuberkulöser Meningitis gestorben war, besondere Zoogloen von Kurzstäbchen, die mit Kochschen Tuberkelbacillen nichts gemein hatten, beschrieben haben, sind immer häufiger und häufiger bei Tieren Gebilde, welche anatomisch sehr an Tuberkeln erinnerten, aber nicht durch Tuberkelbacillenansiedelung bedingt, sondern durch andere Mikroben hervorgerufen worden waren, beschrieben worden. Malassez und Vignal sahen nach Impfung mit einem Tuberkelknoten bei Meerschweinchen in sämtlichen Organen Knötchen, welche dieselben Zoogloen enthielten. Im Jahre 1885 fand Nocard (8) in den Lungen von Hühnern zahlreiche kleine, derbe, scharf begrenzte Tuberkeln, welche keine Kochschen Bacillen, wohl aber aus den von Malassez und Vignal beschriebenen stäbchenähnlichen Bacillen bestehende Zoogloen enthielten. Diese Beobachtung von Nocard bewies zum ersten Male, daß die Zooglöntuberkulose eine selbständige Krankheit ist. Hiernach fanden Nocard und Masselin (9) ebensolche Stäbchen in dem Nasenschleim einer tuberkuloseverdächtigen Kuh, welche jedoch, wie die Sektion ergab, nicht an echter Tuberkulose litt. Chantemesse (8) fand dieselben Bacillen in Wattebäuschchen, durch welche von Tuberkulosekranken ausgeatmete Luft filtriert worden war, Grancher und Ledoux-Lebard (8) in dem Wasser, welches durch mit tuberkulösem Material infizierte Erde gesickert war. Bei Tieren fanden solche Zoogloen bildende Stäbchen Charrin und Roger, Dor (10), Eberth und Pfeiffer (11). Letzterer konnte sie bei einem auf Rotz verdächtigen Pferde aus Lungen und Lymphdrüsen isolieren und beschrieb sie genau. Sie besitzen eine Länge von 1–2 μ und abgerundete Enden und bilden Zoogloen sowie Ketten, haben im Organismus sowie in alten Kulturen ein kokkenartiges Aussehen, sind unbeweglich, lassen sich leicht färben, nur nicht nach Gram, verändern die Milch nicht, verflüssigen die Gelatine nicht und trüben die Bouillon. Parietti fand später dieselben Bacillen in einer Milchportion, welche ein Meerschweinchen infiziert hatte. Erst im Jahre 1894 brachte Preisz Alles, was über die durch einen Bacillus hervorgerufene Pseudotuberkulose berichtet worden war, in ein System und schlug anstatt der von Malassez angewandten Bezeichnung („Zooglöntuberkulose“) die Bezeichnung „Pseudotuberkulose der Nagetiere“, welche bei Meerschweinchen und Kaninchen spontan auftritt und durch den von Pfeiffer genau beschriebenen Bacillus hervorgerufen wird, vor. Da aber der Bacillus in der Bouillon Ketten bildet, so benannte Preisz ihn „Streptobacillus“. Unter dem Namen „Pseudotuberkulose der Nagetiere“ ist also die Zooglöntuberkulose von Nocard bei Hühnern, von Eberth, Dor, Pfeiffer, Charrin, Roger bei Kaninchen und Meerschweinchen, von Mégnin, Mosny und Lignières bei Hasen, von Courmont und Nicolas beim Ochsen zu verstehen; T'Hoën (12) beobachtete eineENZootie bei Meerschweinchen, Kaninchen, Hasen, Hühnern und Katzen, welche gleichfalls zu dieser Gruppe von Erkrankungen gehört. Das Bakterium selbst kann als „Bacillus pseudotuberculosis rodentium Pfeifferi“ oder als „Streptobacillus pseudotuberculosis Dor“ bezeichnet werden.

Jetzt, wo der Bacillus schon von vielen Forschern studiert worden ist, ist bekannt, daß man ihn ziemlich oft in der Natur, in Erde,

Wasser, Staub, Heu (zuweilen Milch) antreffen kann. Besonders wichtig ist noch der Umstand, daß er unter Nagetieren Epizootien hervorrufen kann. Zieht man jedoch noch seine morphologische Aehnlichkeit mit dem Pestbacillus in Betracht, so kann man nicht umhin, anzuerkennen, daß ein genaues Studium desselben, namentlich zum Vergleich mit dem Pestbacillus, sehr wünschenswert wäre. In letzter Zeit ist dieses auch schon getan worden [Bruno Galli-Valerio (3)]. Als ich jedoch die Beschreibung des Bacillus bei Pfeiffer, sodann in einigen Lehrbüchern, wo genauer von ihm die Rede ist, und schließlich bei Galli-Valerio verglich, fiel mir die Verschiedenartigkeit der Charakteristiken desselben, welche sich bei verschiedenen Autoren finden, auf.

Sehr verschieden werden sogar die wesentlichsten Merkmale des Mikroben beschrieben; so beschreiben ihn die einen als sehr beweglichen Bacillus, die anderen dagegen als einen unbeweglichen; ebenso auch in Betreff seines Wachstums auf Bouillon: Während nach Angaben der einen die Bouillon schon nach 24 Stunden getrübt wird, bleibt sie nach Angaben anderer ganz klar. Da die Frage so stand, schien es mir höchst wünschenswert, sie einem weiteren Studium zu unterziehen; hierzu bewog mich auch meine erste Bekanntschaft mit dem Pfeifferschen Bacillus. Die erste Kultur dieses Bacillus erhielt ich von Prof. D. Zabolotny und hielt ihn anfangs für eine Pestkultur, so groß war die Aehnlichkeit mit dieser. Außer dieser bezog ich noch eine andere Kultur des Bacillus pseudotuberculosis rodentium aus dem Institut von Král in Prag. Beide Kulturen wurden von mir parallel mit den Pestkulturen und nach demselben Plane studiert.

Sowohl in morphologischer Beziehung als auch in ihrem Wachstum auf künstlichen Nährmedien ähnelten beide Kulturen einander fast aufs Haar; nur war das Wachstum der von Král bezogenen Kultur ein etwas zarteres; außerdem war sie bedeutend virulenter als die zweite Kultur.

Für sein Gedeihen erfordert der Bacillus keine besonderen Nährmedien, sondern wächst auf allen gewöhnlichen, alkalisch reagierenden Medien. Die alkalische Reaktion kann verschiedene Grade besitzen, und nur auf stark alkalischen Nährmedien ist das Wachstum ein spärlicheres. Was die für das Wachstum des Bacillus gedeihlichste Temperatur anbetrifft, so schwankt dieselbe nach meinen Beobachtungen in ziemlich weiten Grenzen, von 30—38° C. Uebrigens gedeihen die Kulturen auch bei Temperaturen unter 30° C, und erst bei Temperaturen unter 18—20° C wurde das Wachstum gehemmt, bei 0° aber hörte es ganz auf. Bei Temperaturen über 40—41° C konnte ich auf künstlichen Medien nie Wachstum beobachten. Damit der Bacillus sich fortpflanzt, bedarf er des Sauerstoffs, d. h. er gehört zu den aëroben Mikroorganismen, unter streng anaëroben Bedingungen aber ist kein Wachstum desselben zu beobachten. Nimmt man etwas Impfmateriel von einem infizierten Tiere oder von einer künstlich angelegten Kultur und impft man dasselbe auf schwach alkalisch reagierende Bouillon, so bemerkt man schon nach 20-stündigem Wachstum bei 30—37° C, sobald die bis dahin klare Bouillon sich trübt, in ihr schwimmende und durch Schütteln des Probiergläschens leicht zerreißbare Flocken, von denen ein Teil der Wand anhaftet. Beide Kulturen, welche mir zur Verfügung standen, trübten die Bouillon nicht vollständig und zeigten derartige Flockenbildung. Mit fortschreitendem Wachstum wurden die Flocken immer größer, fielen zum Teil zu Boden und bildeten über der Oberfläche der

Flüssigkeit einen der Wand anhaftenden Ring. Bei ruhigem Stehen des eine Bouillonkultur enthaltenden Kolbens bildeten sich schon nach einigen Tagen von der Flüssigkeitsoberfläche ausgehende Stränge („Stalaktiten“), welche den Boden des Gefäßes erreichten und aus Mikrobenkörperansammlungen bestanden. Bei mikroskopischer Untersuchung von Bouillonkulturen fand ich ein Stäbchen mit abgerundeten Enden, das der Länge nach $0,9-2\ \mu$, der Breite nach $0,4-0,8\ \mu$ maß. Die Stäbchen bildeten aus 2—3—5 und mehr Gliedern bestehende Ketten. In einer jeden Bouillonkultur und überhaupt in jeder flüssigen Kultur waren stets solche, zuweilen sehr lange Ketten enthalten. Bei Färbung von Präparaten mit schwacher Methylenblaulösung oder stark verdünntem Karbolfuchsin war die ungleichmäßige Färbung der einzelnen Glieder der Kette deutlich sichtbar; die Mikroben färbten sich an den Enden stärker als im Zentrum. Neben solchen Ketten fanden sich viele vereinzelte, in Gruppen vereinigte Exemplare, welche sich gleichfalls bipolar färbten. Die Mikroben vermehren sich durch Teilung, Sporenbildung konnte von mir nicht festgestellt werden. Selbständige Beweglichkeit besitzt der Bacillus auch nicht. Er läßt sich mit verschiedenen Anilinfarben sehr gut färben, nicht aber nach den Methoden von Gram und Neisser. In alten Bouillonkulturen¹⁾ klärt sich die Flüssigkeit; am Boden des Gefäßes bildet sich ein reichlicher Niederschlag, in welchem die Bakterien ihre Fähigkeit, sich bipolar zu färben, sehr lange beibehalten; Ketten sind nur in sehr geringer Anzahl festzustellen. Die Lebensfähigkeit des Pseudotuberkulosebacillus ist in flüssigen Nährmedien eine sehr bedeutende; noch nach $1\frac{1}{2}$ Jahren konnte die Ueberimpfung mit Erfolg ausgeführt werden. Zusatz von Zucker und Glycerin in den gewöhnlich angewandten Proportionen förderte das Wachstum etwas.

Auf Agaragar bildet sich schon nach 24 Stunden eine weiße, ölig glänzende, halb durchsichtige Membran, welche aus deutlich zu unterscheidenden, über die Agaroberfläche erhabenen, einzelnen Kolonien besteht; die Ränder der Kolonien sind ausgebuchtet. Nach 2 bis 3 Tagen konfluieren sie. Bei durchfallendem Lichte erscheint die Membran weißgelblich gefärbt, opaleszent, mit durchsichtigen, in allen Regenbogenfarben spielenden Rändern; in reflektiertem Lichte sieht sie weiß, ölig, nach 16—18-stündigem Wachstum ziemlich zart, nach 2—3 Tagen aber derb, mit scharfen, ausgebuchteten Rändern, aus. Das Kondensationswasser trübt sich und weist in ihm schwimmende Flocken auf. Unter dem Mikroskop unterscheiden sich die im Kondensationswasser enthaltenen Mikroben von den in Bouillonkulturen wachsenden durchaus nicht. Bei mikroskopischer Untersuchung der Agarkultur findet man stäbchen-, ei- oder kugelförmige Mikroben, welche $0,6-1,2\ \mu$ lang und etwas weniger breit sind. Sie liegen vereinzelt, selten zu zweien da und färben sich in ihrer ganzen Ausdehnung; nur selten läßt sich eine gute „ungleichmäßige Färbung“ feststellen. Mit fortschreitendem Wachstum wird die Zahl der kokkenartigen Mikroben eine immer größere. Bei Züchtung auf Kochsalzagaragar (3—4 Proz.) konnte ich nicht bemerken, daß kokkenartige, hefeartige und andere Involutionenformen sich rascher bilden. Auf der Agaroberfläche, in Plattenkulturen

1) Oftmals bildet sich in Kulturen, welche in engen Probiergläsern aufbewahrt werden, schon nach 2—3 Tagen eine Oberflächenmembran; die Reaktion schlägt hierbei gewöhnlich aus einer schwach alkalischen in eine stark alkalische um.

bilden sich runde Kolonien mit dunklerem zentralen Kern und hellerem, zuweilen festoniertem, nicht ganz gleichmäßig dickem, peripherem Ring. Alte Agarkulturen geben einen eigenartigen, unangenehmen Geruch von sich.

Auf Gelatine zeigt der *Bacillus* bei 18–20° C schon nach 24 Stunden merkliches Wachstum. In Stichkulturen sieht man zuerst einzelne Punkte, welche dann in einen fortlaufenden Strich zusammenfließen; oben bildet sich ein Häubchen mit unebenen, ausgebuchteten Rändern. In Strichkulturen bildet sich eine in reflektiertem Lichte weiße Membran, welche in durchfallendem Lichte gelblich glänzend erscheint; ihre Ränder sind uneben, opaleszent. In Plattenkulturen haben die oberflächlichen Kolonien ein körniges Aussehen, während die Ränder einen gleichmäßigen Bau und ausgebuchtete Ränder aufweisen. Die Gelatine wurde nicht verflüssigt.

Auf Kartoffeln zeigen die Pseudotuberkulosebacillen schon nach 24 Stunden bei 37° C merkliches Wachstum. Man gewahrt eine blaßgelbe Membran, welche sich von der Kartoffelsubstanz abhebt. Zuweilen bräunt sie sich mit der Zeit. Dieses war bei mir nur einmal der Fall, gewöhnlich blieb sie blaßgelb.

Auf geronnenem Kalbsserum gediehen die Kulturen bei 33–35° C ausgezeichnet, ohne dasselbe zu verflüssigen; sie bildeten weißgelbe Kolonien. Nach 24 Stunden konnten die einzelnen Kolonien noch unterschieden werden, später konfluieren sie und nur an den Rändern sah man einzelne Kolonien mit ausgebuchteten Rändern.

Auf zuckerhaltigen Nährmedien, sie mochten flüssig oder fest sein, zeigten die Pseudotuberkulosebacillen keine Gasbildung (Kohlensäureentwicklung).

Milch (Kuh- oder Ziegenmilch) gerann nicht und veränderte weder Farbe noch Konsistenz im Laufe eines Monats nach der Impfung.

Mit Peptonkulturen des *Bacillus* mehrmals wiederholte Indolreaktion fiel stets negativ aus.

Gegen hohe Temperaturen waren die mir zur Verfügung gestellten Kulturen ziemlich empfindlich. In flüssigen Nährmedien konnten sie bei 60° C im Laufe von 8, bei 57° C im Laufe von 15 Minuten getötet werden. In getrocknetem Zustande waren sie standhafter: bei 60° C konnten sie dann erst nach 1–1½ Stunden getötet werden.

Betrachten wir nun, wie sich diese Mikroben zu dem tierischen Organismus verhalten. Für einige Tiere (Ratten, Igel, Katzen, Hunde, Pferde, Ziegen, Feldmäuse) sind die Bacillen der Pseudotuberkulose der Nagetiere wenig schädlich, für andere (Meerschweinchen, Kaninchen, Hausmäuse) dagegen hochvirulent. Die mir zur Verfügung stehenden Kulturen unterschieden sich, wie bereits erwähnt, in ihrer Virulenz. Während Kultur I weder Kaninchen noch Ratten und weiße Mäuse tötete, zur tödlichen Infektion von Meerschweinchen aber in sehr großen Mengen und zudem wiederholt einverleibt werden mußte, war Kultur II Kr. für Kaninchen und Meerschweinchen in kleinen Dosen infektionserregend, für weiße Mäuse nur in großen Dosen (intraperitoneale Infektion), während sie Ratten und Tauben gar nicht tötete. Als passendstes Infektionsobjekt können Meerschweinchen (subkutane oder intraperitoneale Infektion) oder Kaninchen (intravenöse Infektion) dienen. Infiziert man ein Meerschweinchen mit einer 24–48-stündigen Agarkultur, so geht das Tier in Abhängigkeit von der Menge und Virulenz

des Bacillus nach 5—8¹⁾ Tagen unter Erscheinungen progredienter Inanition ein.

Bei der Sektion findet man auf der Seite des Infektionseinstiches eine vergrößerte, saftige, mit der Haut nicht verlötete Lymphdrüse; die inneren Organe sind hyperämisch, die Milz vergrößert, rot, zuweilen mit weißen Knötchen durchsetzt; bei längerem Verlaufe der Krankheit kommen die Knötchen häufiger und nicht nur in der Milz, sondern auch in Leber und Lungen vor; das Herz ist erweitert, seine rechte Hälfte blutstrotzend; Peritoneal- und Pleurahöhlen enthalten ein zähflüssiges Exsudat. In Strichpräparaten aus den Organen und dem Bubo sieht man ovale, zuweilen ganz runde Bakterien, welche sich mit sämtlichen Anilinfarben leicht färben lassen; in einigen Bacillen kann bipolare Zeichnung, welche übrigens in den meisten Fällen nicht scharf ausgeprägt ist, beobachtet werden. So große Formenverschiedenheit, wie beim Pestbacillus, sah ich keinmal. Aus den Organen angelegte Kulturen waren stets Reinkulturen; aus dem Blute kann man den Bacillus gleichfalls meist züchten, wenn das Tier 4—6 Tage gelebt hat. Die aus Impfungen mit Organpartikeln hervorgegangenen Kulturen weisen dieselben Grundmerkmale auf wie die anfänglichen Kulturen, nur ist ihr Wachstum ein zarteres.

Meine zweite Kultur besaß folgende Virulenz: 0,2 ccm der 24-stündigen Bouillonkultur töteten ein Meerschweinchen bei subkutaner Infektion im Laufe von 8—12 Tagen, eine Agarkultur aber tötete in der Menge von $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{4}$ Probierröhrchen (24-stündige Kultur) das Tier bei subkutaner Infektion in 3—5 Tagen, bei intraperitonealer Infektion ebenfalls im Laufe von 3—4—5 Tagen; im letzteren Falle gingen die Tiere unter peritonitischen Erscheinungen zu Grunde; die Sektion ergab hierbei ein zähflüssiges Exsudat von milchigem Aussehen in der Bauchhöhle, vergrößerte und hyperämische Milz und Leber, eine riesige Menge von Mikroben im Exsudat und den Organen, im Blute dagegen wenige Bacillen.

Meine beiden Kulturen des Bacillus der Pseudotuberkulose der Nagetiere können also in folgender Weise charakterisiert werden. Der Bacillus stellt ein sich bipolar färbendes Stäbchen dar, welches in flüssigen Nährmedien Ketten bildet (Streptobacillus), auf festen aber Ei- oder Kugelform annimmt; innerhalb des tierischen Organismus besitzt der Bacillus das Aussehen von ovoiden Stäbchen, welche sich zuweilen deutlich, häufiger jedoch schwach bipolar färben; der Bacillus ist unbeweglich, bildet keine Sporen, färbt sich nach Gram nicht, trübt die Bouillon nicht, sondern bildet in ihr Flocken, verflüssigt die Gelatine nicht, koaguliert die Milch nicht und zersetzt den Zucker nicht; außerdem zeigen seine Kulturen keine Indolreaktion; von Tieren schädigte er Ratten und Tauben gar nicht, weiße Mäuse nur in geringem Grade und war für Kaninchen und Meerschweinchen hochvirulent; bei Tieren (Meerschweinchen) ruft er Bubonenbildung (kleine Bubonen), Vergrößerung der inneren Organe, Knötchenbildung in ihnen und Exsudationsprozesse in den Körperhöhlen (Peritoneal- und Pleurahöhle) hervor.

Wie aus dieser Beschreibung ersichtlich, ist die Aehnlichkeit des Pseudotuberkulosebacillus mit dem Pestbacillus eine frappante²⁾, Tier-

1) In einem Falle blieb das Tier 16 Tage nach der Infektion leben; in den Organen waren überall Knötchen zerstreut.

2) Der Pseudotuberkulosebacillus könnte mit demselben Rechte, mit welchem er seinen jetzigen Namen trägt, als Pseudopestbacillus bezeichnet werden.

experimente können auch zuweilen zu ganz ungenauen Ergebnissen führen. Mir stand also die Aufgabe bevor, zu beweisen, daß der Pseudotuberkulosebacillus mit dem Pestbacillus nichts gemein hat; beweisen konnte ich das natürlich nicht durch verschiedene morphologische Merkmale der Kulturen, sondern nur durch biologische Methoden. Zuerst hoffte ich, die beiden Bacillen mit Hilfe gefärbter Nährmedien voneinander unterscheiden zu können. Derartige Nährmedien (mit Lackmus oder nach Omelianski gefärbt) ergaben jedoch nicht immer streng bestimmte Resultate: Veränderungen in ihrer Färbung traten zu verschiedenen Zeiten und in verschiedenem Grade auf.

Indem ich mich nun zur Serumreaktion wandte, erprobte ich vor allem die agglutinierende Wirkung von Pestheilserum auf Pseudotuberkulosebacillen-Kulturen. Wie aus Tabelle II und III ersichtlich, agglutinierte das Pestheilserum den Pfeifferschen Bacillus ganz ebenso wie den echten Pestbacillus. Dieser Umstand verdient beachtet zu werden, denn er erschüttert unseren Glauben daran, daß die Agglutinationsreaktion mit dem Pestheilserum eine spezifische ist. Viel mehr zufriedenstellend waren die Ergebnisse, zu denen das Studium der Krausschen Niederschläge (siehe oben) führte. Dieses ist eine für Pestheilserum spezifische Reaktion: das Serum bildet nur mit Filtraten von Pestkulturen Niederschläge, mit Filtraten anderer Kulturen, z. B. auch des Pseudotuberkulosebacillus, sind dagegen derartige Niederschläge nicht zu erzielen. Ich wiederholte den Versuch viele Male mit demselben Ergebnis¹⁾ und glaube, daß diese Reaktion in diagnostischer Beziehung von hohem Werte ist. Das Serum, welches ich nach Immunisation von Kaninchen gegen Pseudotuberkulose gewann, erwies sich auch als für den Pfeifferschen Bacillus im höchsten Grade spezifisch.

Weiter benutzte ich zur Unterscheidung von Pestbacillus und Pfeifferschem Bacillus die spezifische Heilwirkung des Antipestserums. Dasselbe schützt Tiere gegen die Pesterkrankung und erscheint also als ein für den Pestbacillus spezifisches Serum, während es gegen andere Infektionskrankheiten nicht schützt. Nachdem ich Meerschweinchen so viel Pestheilserum eingespritzt hatte, daß sie gegen Pestinfektion geschützt waren, infizierte ich sie nach Ablauf von 18 Stunden mit einer Pseudotuberkulosebacillen-Kultur (in der minimalen tödlichen Dosis); hiernach gingen sämtliche Tiere an Pseudotuberkulose zu Grunde, während die Kontrolltiere, welchen Pestkultur injiziert worden war, am Leben blieben. Diese Probe kann man natürlich nur dann anstellen, wenn der Pseudotuberkulosebacillus einen genügenden Grad von Virulenz besitzt, da sonst ein Maß für die Wirkung des Bacillus auf den Organismus fehlt.

Die Phagocytenreaktion (in der Bauchhöhle) kann ebenfalls zu diagnostischen Zwecken verwandt werden; hierbei muß jedoch 1) das Serum ein kräftiges sein, von dem nur eine geringe Menge zu Heilzwecken verwandt zu werden braucht, 2) die Kultur eine hochvirulente sein. Bei Hervorrufung von Phagocytose durch ein spezifisches Serum werden natürlich die entsprechenden Mikroben von einer größeren Menge Phagocyten überfallen als andere. Die Bedeutung dieser Reaktion als eines diagnostischen Merkmals ist jedoch eine nur relative, und sie steht in dieser Beziehung weit hinter der Methode der sogenannten kreuzweisen Immunisation zurück. Bei Immunisation von Tieren gegen Pseudo-

1) Die Filtrate waren 3 $\frac{1}{2}$, und 4 $\frac{1}{2}$, Monate alt.

Tabelle IV.

Morphologische und biologische Merkmale		Der Bacillus der Bubonenpest (Bac. pestis Yersin)	Der Bacillus der Pseudotuberkulose der Nagetiere (Bac. pseudotuberculosis rod. Pfeiffer)
Wachstum in Nährbouillon.		Trübt die Bouillon nicht; feine Flocken; Streptobacillus; Stalaktiten.	Trübt die Bouillon nicht; grobe Flocken; Streptobacillus; Stalaktiten.
Wachstum auf Gelatine.		Verflüssigt die Gelatine nicht. Tiefliegende Kolonien sind rund und scharf begrenzt, oberflächliche Kolonien glänzend, im Zentrum feinkörnig, mit ausgebuchteten, in allen Regenbogenfarben spielenden Rändern. Merkbares Wachstum nach 2—3 Tagen.	Verflüssigt die Gelatine nicht. Tiefliegende Kolonien dunkler, oberflächliche glänzend, im Zentrum körnig, die Ränder homogener, ausgebuchtet. Merkbares Wachstum nach 1 bis 2 Tagen.
Wachstum auf Agar-agar.		Zähflüssige, glänzende, weißgraue Membran, die Ränder der Kolonien spielen in allen Regenbogenfarben, sind etwas ausgebuchtet. In Plattenkulturen sind die tieferliegenden Kolonien nicht ganz regelmäßig eiförmig oder rund, von brauner Färbung und grobkörnig; die oberflächlichen Kolonien glänzend.	Oelige, halbdurchsichtige Membran, Ränder der Kolonien ausgebuchtet. In Plattenkulturen runde Kolonien mit dunklerem zentralen Kern und hellerem, ausgebuchtetem, peripherischen Ring.
Wachstum auf Agar-agar mit 3 Proz. NaCl-Zusatz.		Viele Involutionsformen nach 2 bis 3 Tagen.	Viele Involutionsformen nach einigen Tagen.
Wachstum auf Kartoffeln.		Nicht wahrzunehmen.	Blaßgelbe Membran oder nicht wahrzunehmendes Wachstum.
Wachstum auf Milch.		Koaguliert die Milch nicht.	Koaguliert die Milch nicht.
Wachstum an zuckerhaltigen Nährmedien.		Zersetzt den Zucker nicht.	Zersetzt den Zucker nicht.
Indolreaktion.		Negativ.	Negativ.
Größe in Mikron.		0,7—1,5 μ lang.	0,8—1,7 μ lang.
Bewegung.		Unbeweglich.	Unbeweglich.
Sporenbildung.		Fehlt.	Fehlt.
Färbung.	{	In Bouillonkulturen bipolar.	Bipolar.
		Im lebenden Organismus bipolar; starker Polymorphismus.	Nur zum Teil bipolar; Polymorphismus weniger ausgeprägt.
Gramsche Färbung.		Negativ.	Negativ.
Natürliche Infektion.		Mensch, Affe, Ratten.	Mensch (?), Hühner, Kaninchen, Meerschweinchen, Hasen.
Künstliche Infektion.		Mäuse, Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen.	Hausmäuse, Meerschweinchen, Kaninchen.

Morphologische und biologische Merkmale	Der Bacillus der Bubonenpest (Bacillus pestis Yersin)	Der Bacillus der Pseudotuberkulose der Nagetiere (Bac. pseudotuberculosis rod. Pfeiffer)
Anatomisches Bild.	Bubonen mit umgebender Infiltration; Knötchen in Milz (oft), Leber und Lungen (selten).	Kleine Bubonen ohne Infiltration, Knötchen in Milz und Lungen, in der Leber nur bei protrahierter Krankheit. Oftmals zähflüssiges Exsudat in Bauch- und Brusthöhle.
Verhalten zu dem Pestheilserum.	Werden agglutiniert. Ein klares Mikrobenfiltrat zeigt die Präzipitationsreaktion.	Werden agglutiniert. Keine Präzipitationsreaktion.
Kreuzweise Immunisation.	Fällt negativ aus.	Fällt negativ aus.
Pestheilserum.	Schützt gegen Infektion.	Schützt gegen Infektion nicht.

tuberkulose tötete der Pestbacillus sie ebenso wie die Kontrolltiere und umgekehrt blieben die gegen Pest immunisierten Tiere für Pseudotuberkulose empfänglich.

Es ermöglichten also weder die Morphologie des Pfeifferschen Bacillus noch die Eigenschaften seiner Kulturen, noch endlich die Agglutinationsreaktion mit dem Pestheilserum, Pseudotuberkulose- und Pestbacillus voneinander zu unterscheiden; hierzu gaben nur die kreuzweise Immunisation, die Immunisation mit Pestheilserum und die Kraussche (Präzipitations-)Reaktion einen festen Anhalt. An der Spitze dieser Reaktionen steht, was Einfachheit ihrer Ausführung anbetrifft, die Präzipitationsreaktion, um so mehr als sie nicht von der Virulenz des Bakteriums abhängt. Ist man jedoch im stande, die Kultur an Tieren zu prüfen, so darf man nicht vergessen, daß der Pestbacillus Ratten, weiße Mäuse und andere Tiere, nur nicht Kaninchen und Meerschweinchen, tötet, während der Bacillus der Pseudotuberkulose der Nagetiere nur für Kaninchen und Meerschweinchen verderblich ist.

Ein anschauliches Bild der Ergebnisse des vergleichenden Studiums von Pestbacillus und Pseudotuberkulosebacillus gibt Tabelle IV.

Zum Schluß erlaube ich mir (siehe Tabelle V), mit den von mir studierten Pest- und Pseudotuberkulosebacillen einige Mikroben aus der Gruppe der hämorrhagischen Septikämie, welche dem Pestbacillus sehr nahe stehen, zu vergleichen. Von diesen gehören hierher: Der Bacillus der Hühnercholera, der Bacillus der Kaninchenseptikämie (Bacillus Koch-Gaffky) und der Bacillus der Schweineseptikämie (Bacillus suissepticus); besonders ähnlich sind diese Mikroben in ihren morphologischen Merkmalen und ihrer Färbung mit dem Pestbacillus, wenn sie aus Tiermaterial stammen. Die Kenntnis dieser Bacillen hat außer ihrer wissenschaftlichen Bedeutung auch noch praktisches Interesse, da einige von ihnen zuweilen verwüstend auf unsere kleinen Laboratoriumstiere einwirken. Der Beschreibung liegen zum Teil eigene Studien, zum Teil aber in der Literatur feststehende Befunde zu Grunde.

Die Anregung zu vorliegender Arbeit hat der Chefarzt des Kronstädter Marinespitals, Herr Dr. W. Issajew, gegeben, wofür ich ihm an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank sage. Tiefste Anerkennung fühle ich auch zu dem so früh und so tragisch dahingeschiedenen

Tabelle V.

Morphologische und biologische Eigenschaften	Bacillus pestis Yersin	Bacillus pseudotuberculosis Pfeiffer	Bacillus der Hühnercholera	Bacillus septicaemiae Koch-Gaffky	Bacillus suisepitiscus
Wachstum auf Bouillon.	Keine Trübung, zarte Flocken.	Keine Trübung, grobe Flocken.	Ketten aus 2 und mehr Gliedern.	Trüben die Bouillon gleichmäßig.	Sehr kurze Stäbchen, zu 2 und mehr da liegend.
Größe in den Organen.	Nach 24 Stunden typische Flocken.	typische Streptobacillen.	0,8—1,6 μ .	Streptokokken.	0,9—1,0 μ .
Wachstum auf Gelatine.	0,7—1,5 μ .	0,8—1,7 μ .	Verflüssigen die Gelatine nicht.	1,0—1,4 μ .	
Wachstum auf Agar.	Wachst. nach 2—3 Tagen; Kolonien mit körnigen Zentrum und homogener Peripherie, die in allen Regenbogenfarben spielen.	Nach 1—2 Tagen Kolonien mit ausgebuchten Rändern, dunklem Zentrum, heller Peripherie.	Nach 24—48 Stunden Kolonien mit braunem Zentrum und ausgebuchtem Saum.	In Stich-Nach 3 Tagen. In Schikulturen nagelförmiges Wachstum; in Plattenkult. Kulturen m. dunkl. Zentrum u. gelber Peripherie.	Nach 2—3 Tagen. In Stichkulturen nicht konfluierende, punktförmige Kolonien.
Wachstum auf Kartoffeln.	Zähflüssige, glänz. Membran; Saum der Kolonien ausgebuchet.	Oelige, halbdurchsichtige Membran.	Dünne, graue Membran.	Scharf umgrenzte Kolonien mit gelber Peripherie.	Weißliche, glänzende, durchsichtige Kolonien.
Wachstum auf Milch.	Nicht merkbares Wachstum.	Hellgelbe Membran.	Kein Wachstum.	Wachst. b. +° nicht unt. 28—30° C; graue, glänz. Kol.	Kein Wachstum.
Beweglichkeit.	Keine Koagulation.		Keine Veränderung.		Keine Koagulation; die Reakt. wird schwach sauer.
Sporenbildung.			Unbeweglich.		
Färbung in Organen.			Fählt.		
Gramsche Färbung.			Bipolar.		
Indolreaktion.			Fählt.		
Natürliche Infektion.	Mensch, Affe, Maus.	Mensch (?), Huhn, Kaninchen, Meerschweinchen, Hasen.	Vögel, Kaninchen.	Kaninchen.	Schweine.
Künstliche Infektion.	Mäuse, Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen.	Hausmäuse, Kaninchen, Meerschweinchen.	Vögel, Kaninchen, Meerschweinchen.	Kaninchen, Meerschweinchen, Vögel. Erstere gehen nach 24 Stunden zu Grunde.	Mäuse, Kaninchen, Kalb, Meerschweinchen, Huhn, Taube (weniger empfänglich).
Anatomisches Bild.	Bubon. m. Infiltrat.; Knötchen in Organen; Blutergüsse in d. serösen Häute.	Bubonen mit Infiltration; Knötchen in den Organen.	Septische Erscheinungen, Häute: schwarzes, flüssiges Blut; vergrößerte, dunkle Milz.	Blutergüsse in die serösen Häute.	Fibrinöse Entzündung der serösen Häute.
Kreuzweise aktive und passive Immunität.			Fällt negativ aus.		

Direktor des Laboratoriums, W. J. Wyschnikiewicz-Turtschinowitsch, welcher allen sich für die Sache Interessierenden sein prächtig ausgestattetes Laboratorium in bereitwilligster Weise zur Verfügung stellte.

Literatur.

- 1) Ibrahim Bey, zit. nach Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVII. p. 618. — 2) Gladin, G., Die Lebensfähigkeit der Pestbacillen etc. [Diss.] St. Petersburg 1898. [Russisch.] — 3) Galli-Valerio, Brit. med. Journ. 1902. 27. Sept. u. Centralbl. f. Bakt. etc. 1903. No. 5. — 4) Pitfield, The Lancet. 1901. 23. Nov. — 5) Sata, Experim. Beitrag zur Aetiologie ... der Pest. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXVII. 1900.) — 6) Kolle, Bericht ... (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI. 1901. p. 397.) — 7) Malassez et Vignal, Tuberculose zoologique. (Arch. de physiol. norm. et pathol. T. II. 1883. — 8) Nocard, zit. nach Gedoelst, Microbiologie. T. II. 1901. p. 296. — 9) Nocard et Masselin, Sur un cas de tuberc. zoogl. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1889. — 10) Dor, Pseudotuberc. bacillaire. (Compt. rend. de l'acad. d. sc. T. CVI. 1888. — 11) Pfeiffer, Ueber die bacilläre Pseudotuberkulose bei Nagetieren. Leipzig 1889. — 12) T'Hoën, zit. nach Wassermann u. Kolle, Handb. d. pathog. Mikroorganismen. 1902. — 13) Zabolotny, D., siehe die wissenschaftl. Chronik des russischen Archivs f. Pathologie etc. Bd. XIV. 1902. Heft 3. p. 820. [Russisch.]

Nachdruck verboten.

Notiz, Gelbfieber betreffend.

Von James Carroll, M. D.,

Assistant Surgeon U. S. Army, Washington, War Department.
Surgeon General's Office.

Bei der Durchsicht eines im Verlage von F. R. de Rudeval, 4 Rue Antoine Dubois, Paris, unter dem Titel: „Parasitologie animale“ kürzlich erschienenen kleinen Textbuches von M. Neveu-Lemaire, 1904, fand ich in dem Artikel „Gelbes Fieber“ Angaben, die einer dringenden Berichtigung bedürfen, um keine Veranlassung zu irrtümlichen Ansichten zu geben.

Nachdem in dem betreffenden Artikel Dr. Charles Finlay Anerkennung gezollt ist für die Verbreitung seiner Ansicht hinsichtlich der Uebertragung der Krankheit durch Moskitos, macht Verf. die weiteren Angaben, daß die Liverpooler Schule für tropische Medizin eine Kommission nach Brasilien geschickt hat, hauptsächlich zu dem Zwecke, die Ansicht des Herrn Finlay einer Prüfung zu unterziehen. Es wird ferner erwähnt, daß Dr. Walter Myers durch an sich selbst vorgenommene Versuche sein Leben verloren hat, und daß kürzlich die Amerikaner das Studium dieser Krankheit in Cuba unternommen haben.

Alle Ehre gebührt Dr. Myers wie Dr. Lazear, Mitglied der Amerikanischen Armeekommission, für das Opfer, welches sie der Wissenschaft gebracht haben. Das Gleiche gilt von Dr. Durham, der gleichzeitig mit seinem Kollegen von der Krankheit ergriffen wurde, aber genas. Dr. Durham macht nun in seinem Bericht keine Angaben darüber, daß sie sich selbst so wie andere von Moskitos haben inokulieren lassen, sondern daß ihre Tätigkeit auf das Auffinden eines kleinen Bacillus gerichtet war. Nach seinen Angaben wurden die zum Studium nötigen Apparate der Britischen Kommission erst am 1. Sep-

tember 1901¹⁾ von dem Zollhaus in Para freigegeben. Um diese Zeit hatte die Amerikanische Kommission durch Moskitobisse²⁾ bereits 2 Fälle von gelbem Fieber erzeugt. An demselben Datum hatte Dr. Lazear sich von Mosquitos stechen lassen, wodurch sein Tod in demselben Monat, am 25. September, erfolgte. Dr. Myers erkrankte erst am 16. Januar des folgenden Jahres, zu welcher Zeit die Amerikanische Kommission bereits 6 weitere Erkrankungen durch Moskito-inokulation hervorgerufen hatte. M. Neveu-Lemaire hat es unterlassen, der Amerikanischen Kommission den Vorrang zu geben, der ihr gebührt. Seine Schlußfolgerung auf p. 206 ist einfach eine Entstellung der Wahrheit. Er sagt: „Dr. Caldas von Havanna experimentierte an sich selbst und starb einige Tage später, ein Opfer seiner Hingabe für die Wissenschaft“. Es ist sehr zu bedauern, daß die Quelle seiner Information nicht angegeben ist. Die Tatsache ist, daß Dr. Caldas nicht in Havanna geboren, sondern ein Brasilianer war, der sehr viel mit an gelbem Fieber Erkrankten in Berührung gekommen war und daher wahrscheinlich immun war. Soviel mir bekannt, hat er keine Moskitoinokulationen an sich vorgenommen, und soviel mir bewußt, ist er noch am Leben. Er besuchte Havanna im August 1901 mit der Absicht, Versuche mit einem sogenannten vorbeugenden und heilenden Serum an von gelbem Fieber Erkrankten zu machen, und eine Flasche seines Serums ist noch in meinem Besitz. Dieses Serum war gewonnen durch Inokulation mit einem Bacillus, der den Eingeweiden eines am gelben Fieber Gestorbenen entnommen worden war. Dr. Caldas verweigerte, aus kommerziellen Gründen, eine Kultur seines Organismus auszustellen. Um den Wert seines Serums zu demonstrieren, veranlaßte er zwei spanische Einwanderer, sich Einspritzungen von seinem Serum machen zu lassen. Einer dieser Einwanderer ließ sich dann von zwei von Dr. Guiteras infizierten Mosquitos stechen. Innerhalb 4 Tagen zeigte der Mann die Symptome des gelben Fiebers³⁾, wurde jedoch wieder besser. Als der andere Spanier die Erkrankung seines Kollegen wahrnahm, verschwand er spurlos. Dr. Caldas war der Ansicht, daß die Moskitos den Erkrankten nicht mit gelbem Fieber, sondern mit Septikämie infiziert hatten. Als Mitglied der Amerikanischen Armee-kommission war ich in Havanna zu jener Zeit beschäftigt und war vollkommen mit allen Vorgängen vertraut.

Mit Rücksicht auf den in Paris im letzten Jahre erschienenen vorzüglichen Bericht der Gelbfieberkommission des Pasteur-Institutes und der leichten Zugänglichkeit anderweitiger Literatur sind die ungenauen Angaben des Herrn M. Neveu-Lemaire nicht zu entschuldigen.

Wenn ich es auch bedaure, mich in diese Kontroverse eingelassen zu haben, so halte ich doch die Richtigstellung der Tatsachen für meine Pflicht meinen früheren Kollegen, meiner Dienstpflicht sowie auch mir selbst gegenüber. Ich denke, daß ich nach den authentischen Aufzeichnungen mit Recht auf die Ehre Anspruch machen kann, der erste gewesen zu sein, der an sich selbst Gelbfieberexperimente gemacht

1) The Thompson Yates Laboratories Reports. Vol. IV. 1902. Part 2. p. 485.

2) Reports of the American Public Health Association. Vol. XXVI. 1900. p. 37

et seq.

3) Dr. Guiteras in American medicine. 1901. Case 8. p. 815. November 23.

hat¹⁾. Dies gibt mir ein weiteres Recht, auf das Unrichtige der vorerwähnten Mitteilungen aufmerksam zu machen.

Washington, D. C., 29. September 1904.

Nachdruck verboten.

Zur Biologie der Trypanosomen der Nagana und des Mal de Caderas.

[Aus der epizootologischen Abteilung des kaiserl. Institutes f. experim. Medizin zu St. Petersburg. Leiter: A. Wladimiroff.]

Von W. L. Jakimoff.

Bei meinen Untersuchungen über *Trypanosoma Brucei* und *Elmassiani* hatte ich es mir zur Aufgabe gestellt, zunächst die Angaben früherer Autoren nachzuprüfen, dann aber einige noch wenig oder gar nicht berührte Fragen aus der Biologie dieser Flagellaten zu bearbeiten. Im wesentlichen waren es folgende Fragen, mit denen ich mich beschäftigt habe: 1) Die Wirkung der Trypanosomen auf verschiedene Tierarten; 2) Feststellung der minimalen zur Infektion noch ausreichenden Mengen trypanosomenhaltigen Blutes; 3) Erhaltung der Virulenz infektiösen Blutes unter verschiedenen Aufbewahrungsbedingungen; 4) Uebergang der Trypanosomen in verschiedene Körperflüssigkeiten des infizierten Organismus; 5) Einwirkung einiger chemischer und physikalischer Agentien auf die Lebensfähigkeit der Trypanosomen.

Zu meinen Untersuchungen dienten folgende Tiere: Weiße und graue Mäuse (336), weiße und graue Ratten (13), Meerschweinchen (56), Kaninchen (5), Hunde (12), Katzen (3), Ziegen (2), Fuchs (1), Tauben und Frösche.

Das Infektionsmaterial, welches dem Institute durch freundliche Vermittelung von Dr. Klodnizky aus dem Laboratorium des Herrn Prof. Ehrlich in Frankfurt zugegangen war, wurde den Versuchstieren subkutan oder intraperitoneal, seltener intravenös eingeführt.

I. *Trypanosoma Brucei*.

Weiße und graue Mäuse gehören zu den allerempfindlichsten Tieren gegenüber des *Trypanosoma Brucei*. In den Versuchen von Laveran und Mesnil traten bei diesen Tieren die Parasiten bei intraperitonealer Applikation nach weniger als 24 Stunden im Blute auf und führten in 3 Tagen zum Tode; bei subkutaner Einführung dauerte die Inkubationsperiode $1\frac{1}{2}$ —2 Tage und trat der Tod nach $3\frac{1}{2}$ —5 Tagen ein. Bei meinen Versuchsmäusen erschienen die Parasiten nach Einführung in die Bauchhöhle gleichfalls vor Ablauf von 24 Stunden im Blute und bewirkten nach einem weiteren Tage den Exitus letalis, während sie, unter die Haut appliziert, nach einer Inkubation von 24—48 Stunden die Tiere in 2—4 Tagen töteten. Bei Kanthack, Durham und Blandford lebten die infizierten Mäuse bedeutend länger (8—25 Tage).

1) Reports of the American Public Health Association. Vol. XXVI. 1900. p. 37 et seq., and paper entitled The Transmission of Yellow Fever. (Journ of the American Medical Association. 1903. May 23.)

Weiß und graue Ratten lassen sich ebenso leicht infizieren wie Mäuse. Sowohl in den Versuchen der soeben genannten französischen und englischen Forscher als auch in den meinigen betrug die Inkubation nach intraperitonealer Impfung weniger als 24 Stunden, nach subkutaner 1–2 Tage. Im ersten Falle fielen meine Ratten nach 3, im zweiten Falle nach 3–6 Tagen, während sie bei Kanthack, Durham und Blandford, subkutan infiziert, erst in 6–26 Tagen zu Grunde gingen.

Die Mäuse behalten bis fast unmittelbar zum Tode ein anscheinend gesundes Aussehen und zeigen nur ausnahmsweise gegen das Ende der Krankheit hin eine gewisse Somnolenz; bei den Ratten werden dagegen bisweilen kurz vor dem Tode Erregungssymptome wahrgenommen. Von weiteren äußeren Krankheitserscheinungen sind nur noch die bisweilen auftretenden ödematösen Schwellungen der Genital- und Analregion zu verzeichnen. Die Zahl der Trypanosomen im Blute wächst während der Krankheit beständig an und kann gegen das Ende außerordentlich groß werden.

Die Meerschweinchen werden von Kanthack, Durham und Blandford für wenig empfindlich gegenüber der Infektion mit *Trypanosoma Brucei* gehalten, von Laveran und Mesnil dagegen für recht empfindlich. Der Ansicht letztgenannter Autoren muß auch ich mich anschließen; wir bedienen uns sogar gerade dieser Tierart zur Unterhaltung und Fortführung des Virus (sowohl *Trypanosoma Brucei* als auch *Trypanosoma Elmassiani*).

Was die Inkubations- und Krankheitsdauer bei Meerschweinchen nach Infektion mit Nagana anbetrifft, so wird von den englischen Autoren erstere auf 5–7 Tage, letztere auf 20–183 Tage angegeben. Laveran und Mesnil fanden bei intraperitonealer Infektion eine Inkubation von 4 Tagen, bei subkutaner eine solche von 4–7 Tagen; der Tod trat meist in 15–30 Tagen ein; die kürzeste Krankheitsdauer betrug 5–6, die längste 46–61 Tage. Bei meinen Meerschweinchen erschienen die Trypanosomen, wenn sie in reichlicher Menge intraperitoneal eingeführt wurden, nach 2–3 Tagen im Blute, äußerst selten später, und nur in einem Falle von sehr reichlicher Infektion schon nach 20 Stunden; der Tod erfolgte bei dieser Art der Ansteckung in 8–42 Tagen. Wurden die Parasiten subkutan beigebracht, so schwankte die Inkubationsperiode je nach der Menge des verwendeten Impfmateri als zwischen 2 und 8 Tagen und wurde der Tod nach 17–32 Tagen beobachtet.

Hier muß ich auf folgende Tatsache aufmerksam machen. Bisweilen scheint bei Meerschweinchen die Infektion nicht gehaftet zu haben, wenigstens lassen sich in ihrem Blute die Parasiten mikroskopisch nicht nachweisen. Trotzdem ist ihr Blut für weiße Mäuse infektiös. In anderen Fällen verschwinden die Trypanosomen zeitweilig oder auch endgültig aus dem Blute, welches jedoch seine Ansteckungsfähigkeit bewahrt. Nach erneuter Infektion werden die Parasiten auch im Blute wieder sichtbar. Eine Genesung der Meerschweinchen wird selbst in Fällen von Trypanosomenschwund nicht beobachtet.

Die Kaninchen verhalten sich nach den Versuchen von Laveran und Mesnil sehr ungleich zur subkutanen Infektion mit Nagana; bei intravenöser erscheinen die Parasiten nach 2 Tagen im Blute. Der Tod erfolgte bei schwächeren Tieren nach 5–12 Tagen, bei stärkeren dauerte die Krankheit 12–40 Tage. Bisweilen wurde eine vorübergehende Abnahme der Trypanosomen im Blute beobachtet; vor dem Tode war jedoch ihr Verhältnis zur Zahl der Erythrocyten wie 1 : 50.

In meinen Versuchen traten bei einem intraperitoneal infizierten Kaninchen die Parasiten nach 2 Tagen im Blute auf, um bald wieder zu verschwinden, trotzdem blieb sein Blut bis zu dem am 11. Tage erfolgten Tode infektiös für Mäuse; bei einem anderen intravenös infizierten Kaninchen ließen sich die Parasiten überhaupt nicht im Blute nachweisen, obwohl dasselbe auch in diesem Falle, wie Kontrollversuche zeigten, den Ansteckungsstoff enthielt. Dieses Tier ging nach 49 Tagen zu Grunde und zeigte, wie auch das vorerwähnte Kaninchen, gegen das Ende der Krankheit eine schwere Affektion der Augen (eitrige Conjunctivitis, Keratitis und Iritis).

Die Katzen bieten in ihrem Blute einen offenbar ebenso wenig günstigen Boden für die Entwicklung der Trypanosomen wie die Kaninchen. Laveran und Mesnil haben mit diesen Tieren zwar nicht experimentiert, nehmen aber an, daß die Krankheit bei ihnen nicht anders verlaufen dürfte als bei den Hunden. Nach den Versuchen der englischen Autoren dauert die Inkubation bei Katzen 5 Tage und erfolgt der Tod am 20.—26. Tage. Meine eigenen Beobachtungen weichen von denen meiner Vorgänger ab. Zwei Katzen, welche in die Bauchhöhle geimpft waren, zeigten am 4. Tage Trypanosomen im Blute und während sie bei einem der Tiere bis zum Tode nachweisbar blieben, schwanden sie bei dem anderen schon nach 1 Tage, ohne daß dadurch das Blut an Ansteckungsfähigkeit für Mäuse eingebüßt hätte. Beide Katzen fielen nach 16 Tagen, nachdem sie Niedergeschlagenheit, Appetitverlust und die eine von ihnen doppelseitige Keratitis und Iritis an den Tag gelegt hatten.

Die Hunde sind außerordentlich empfindlich gegenüber der Nagana. Bruce, welcher im Zululande gelegentlich seiner grundlegenden Arbeit auch an Hunden experimentierte, fand, daß die Krankheit bei ihnen schnell verläuft (in 8—16 Tagen) und stets mit dem Tode endet. Nach Kanthack, Durham und Blandford beträgt die Inkubationsperiode 4—6 Tage und erfolgt der Tod nach 14—16 Tagen. Nach Laveran und Mesnil erscheinen die Trypanosomen im Blute der Hunde 2—3 Tage nach subkutaner Infektion, welche nach $6\frac{1}{2}$ —12 Tagen zum Exitus letalis führt. In dem Versuche von Nocard ging ein junger Hund 14 Tage nach der Impfung ein. Bei meinen 5 Versuchshunden erschienen die Trypanosomen 2—3 Tage nach subkutaner Impfung im Blute, ihre Zahl nahm bis zum Tode beständig zu; nur in 2 Fällen schien dieselbe gegen das Ende der Krankheit hin etwas abzunehmen, jedoch habe ich nie ein Schwinden der Parasiten beobachtet, wie es Laveran und Mesnil angeben.

In den ersten Krankheitstagen werden keine auffallenden Symptome wahrgenommen, darauf aber stellen sich Oedeme an den unteren Partien des Kopfes, des Halses, der Brust, des Bauches und an den Genitalien ein, bisweilen kommt es auch zu Schwellungen einer oder mehrerer Extremitäten, wodurch die Tiere im Gange behindert werden. Der Appetit bleibt fast bis ans Ende erhalten, nur 1—2 Tage vor dem Tode fressen die Tiere schlecht, sind apathisch und bleiben liegen, am ganzen Körper zitternd; einige verfallen in Somnolenz. Die Abmagerung macht rasche Fortschritte. Die Temperatur fängt vom 3. Tage nach der Infektion an zu steigen, bleibt mehrere Tage hoch, um darauf wieder abzufallen und zwar gegen das Ende hin sogar unter die Norm. Die Augen werden bei den Hunden immer in Mitleidenschaft gezogen, so

daß einige Tiere sogar völlig erblinden; der Tod erfolgt am 13.—18. Tage, ein junger Hund fiel schon am 7. Tage.

An Füchsen sind meines Wissens noch keine Versuche ausgeführt worden. Bei einem Exemplar dieser Gattung, welches ich subkutan infiziert hatte, traten die Parasiten im Blute am 3. Tage auf, die Krankheit nahm einen äußerst stürmischen Verlauf, die Zahl der Trypanosomen wuchs mit jedem Tage und war am Ende der Krankheit so groß, daß sie fast diejenige der Erythrocyten übertraf. Vom 4. Tage an erschien das Tier sehr schwach und vom 6. Tage an lag es besinnungslos und tiefatmend da; am 8. Tage trat der Exitus ein.

Die afrikanischen Ziegen sind nach den Angaben der englischen Autoren unempfindlich für die Nagana. Eine Ziege, welche Laveran und Mesnil am 25. Oktober infiziert hatten, war noch im Januar des folgenden Jahres am Leben; das Blut dieses Tieres war schon vom 3. Tage an infektiös, obwohl die Parasiten in demselben so rar waren, daß sie sich mikroskopisch nicht nachweisen ließen. Ratten eingespritzt, rief es nach einer Inkubation von $4\frac{1}{2}$ —8 Tagen die übliche Erkrankung hervor. Eine Ziege, welcher ich am 3. August *Trypanosoma Brucei* subkutan inokuliert hatte, lebte bis zum 2. Januar des folgenden Jahres (5 Monate). Trotz sorgfältigster mikroskopischer Untersuchung ist es mir niemals gelungen, Trypanosomen in dem Blute dieses Tieres nachzuweisen. Und dennoch erkrankten und fielen die Mäuse, denen dieses Blut in verschiedenen Intervallen nach der Infektion der Ziege (5, 26, 34, 55 und 81 Tage) eingespritzt wurde, nach einer Inkubationsperiode von 7—10 Tagen. Nach 91 Tagen hatte das Blut seine Ansteckungsfähigkeit für Mäuse verloren. Die Ziege selbst ließ bei Lebzeiten keine besonderen Krankheitserscheinungen erkennen. Freilich stieg bei ihr die Körpertemperatur schon am Tage nach der Ansteckung an und erreichte am 5. Tage ein Maximum von $41,4^{\circ}$, worauf sie mit Schwankungen wieder abfiel; außerdem wurde eine gewisse Abmagerung wahrgenommen. Bei der Obduktion wurden keine auffallenden Veränderungen gefunden; selbst die Milz war nicht vergrößert.

Frösche und Vögel (Tauben) sind absolut unempfindlich gegen die Trypanosomen der Nagana, welche sich in ihrem Blute weder mikroskopisch noch auch durch Kontrollimpfungen nachweisen lassen.

Um der Frage näher zu treten, ob unsere einheimischen Fliegen nicht die Rolle der Tse-tse-Fliege übernehmen können, fütterte ich sie mit trypanosomenhaltigem Blute und den Organen getöteter oder an Nagana gefallener Tiere. Nach 1, 2 und 3 Tagen präparierte ich aus diesen Fliegen Emulsionen und versuchte damit Mäuse zu infizieren, jedoch stets mit negativem Resultate.

Zu allen bisher erwähnten Versuchen bediente ich mich eines an Trypanosomen mehr oder weniger reichen Blutes im Gemisch mit physiologischer Kochsalzlösung. Außerdem habe ich jedoch auch einige Experimente mit trypanosomenarmen Blute angestellt, wobei ein verspätetes Auftreten der Parasiten im Blute der infizierten Tiere zu Tage trat: So bei Mäusen nach subkutaner Applikation erst nach 3—4 Tagen (nach Laveran und Mesnil nach 5—7 Tagen), bei Ratten nach 3, bei Hunden nach 4, bei Meerschweinchen nach 9—11 Tagen.

Eine noch größere Verzögerung fand in den Fällen statt, wenn wir den Mäusen das Blut solcher infizierten Tiere einspritzten, bei denen sich die Trypanosomen mikroskopisch überhaupt nicht nachweisen ließen.

Blut v. d. Ziege	26 Tage n. d. Infektion	—	Maus erkrankt n.	6 Tagen
" " " "	34	" " " "	" " "	10 "
" " " "	55	" " " "	" " "	7 "
" " " "	81	" " " "	" " "	10 "
" " " Kaninchen	2	" " " "	" " "	4 "
" " " "	3	" " " "	" " "	5 "
" " " Katze	29	" " " "	" " "	4 "

Auch das Blut gefallener Tiere bewahrt noch eine Zeitlang seine Ansteckungsfähigkeit; wenigstens ist es mir mehrfach gelungen, noch 12—18 Stunden nach dem Tode des Wirtstieres Mäuse mit Emulsionen aus Blutgerinnseln oder Organpulpa zu infizieren. Selbstverständlich nimmt mit der Entfernung vom Momente des Todes die Infektionsmöglichkeit ab, während die Inkubationsperiode sich in die Länge zieht.

Ferner verfüge ich über eine Reihe von Versuchen betreffend die Infektiosität verschiedener Körperflüssigkeiten naganierter Hunde und Meerschweinchen. Die Cerebrospinalflüssigkeit, sowohl aus den Seitenventrikeln als auch aus dem Rückenmarkkanal, die pleuralen und peritonealen Exsudate, der Inhalt des Herzbeutels, die Galle, endlich die Flüssigkeit aus Hautödemen erwiesen sich als virulent nach verschieden langer Inkubationszeit. Der Harn dagegen zeigte sich als nicht infektiös.

Um festzustellen, welche geringe Mengen des Infektionsmaterials zur Erzielung positiver Resultate genügen, habe ich, gleich Laveran und Mesnil, das trypanosomenhaltige Blut in Verdünnungen von 1 : 5 bis 1 : 50 000 weißen Mäusen unter die Haut gespritzt. Hierbei habe ich stets positive Ergebnisse erhalten, wenn auch mit einer gewissen Verspätung.

Verdünnung	Inkubation	Tod
1 : 5	4 Tage	nach 10 Tagen
1 : 50	4 "	8 "
1 : 500	4 "	8 "
1 : 5000	3 "	6 "
1 : 50 000	15 "	18 "

Schon bei einer Verdünnung von 1 : 500 sind die Trypanosomen mikroskopisch nicht mehr nachweisbar. Diese Versuche sind geeignet, zu erklären, warum das Blut gewisser Tiere (Ziege, Katze, Kaninchen), in welchem wir keine Parasiten aufdecken konnten, trotzdem ansteckungsfähig war. Offenbar genügt eine minimale Anzahl von Trypanosomen, um die Infektion zu stande zu bringen. Jedenfalls glaube ich annehmen zu müssen, daß in dem infektiösen Blute solcher Tiere die Trypanosomen in ihrer typischen Wuchsform existieren und nicht etwa in irgend welchen anderen Formen, zu deren Annahmen keinerlei zwingende Veranlassung vorliegt.

Was die Zeitdauer anbetrifft, während deren das Blut naganierter Tiere außerhalb des Organismus seine Virulenz bewahrt, so wird dieselbe von Bruce auf 4 Tage angegeben, wenn keine Austrocknung stattfindet, im entgegengesetzten Falle jedoch nur auf 24 Stunden. Nach Kantschak, Durham und Blandford leben die Trypanosomen in vitro 1—3 Tage und nur ausnahmsweise 4—6 Tage. Nach Plimmer und Bradford bewahren sie ihre Lebensfähigkeit in Präparaten mit Paraffinverschluß 5—6 Tage lang. In den Versuchen von Laveran und Mesnil blieb trypanosomenhaltiges Blut, rein aufgefangen, mit physiologischer NaCl-Lösung gemischt und bei Laboratoriumstemperatur kon-

serviert, noch nach Ablauf von 3 Tagen (wenn auch nicht beständig) ansteckungsfähig.

Zu meinen Konservierungsversuchen verwandte ich das Blut in dreierlei Form: 1) defibriert, unvermischt; 2) vermischt mit 0,6-proz. NaCl-Lösung; 3) vermischt mit Pferdeblutserum; und hielt dasselbe bei niedriger Temperatur (0° bis + 5° C), bei Zimmertemperatur (+ 20° C) und im Thermostaten (+ 36° C). Die Resultate sind aus folgender Tabelle ersichtlich, in welcher die Ziffern angeben, nach wieviel Tagen bei den geimpften Kontrollmäusen die Trypanosomen im Blute auftraten; × = wechselnde Resultate, — = negatives Ergebnis.

Konservierungs- methode	Im defibrierten Blute			In 0,6-proz. NaCl- Lösung			Im Pferdeblutserum		
Temperatur	0—+5	+ 20	+ 36	0—+5	+ 20	+ 36	0—+5	+ 20	+ 36
Konservierungs- dauer									
1 Tag	5	5	—	5	6	—	5—7	6	—
2 Tage	5	7	—	9	8	—	—	6	—
3 "	—	×	—	—	—	—	—	×	—
4 "	—	7	—	—	—	—	—	8	—
5 "	—	×	—	—	—	—	—	7—8	—
6 "	—	7	—	—	—	—	—	8	—

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die Virulenz des *Trypanosoma Brucei* sich am längsten bei Zimmertemperatur im defibrierten Blute oder in dessen Gemisch mit Pferdeserum erhält, während sie im Gemisch mit NaCl-Lösung bei den gleichen Temperaturbedingungen 2 Tage lang nachweisbar ist. Bei niedriger Temperatur läßt sich die Virulenz ceteris paribus nur 2 resp. 1 Tag lang konservieren. Bei Aufbewahrung im Thermostaten ist es uns in keinem Falle gelungen, die Trypanosomen auch nur 1 Tag lang lebend zu erhalten.

Um die Wirkung der Wärme auf die Trypanosomen zu studieren, plazierte ich mit trypanosomenreichem Blute gefüllte Pipetten in ein Wasserbad, worin sie bei verschiedenen Temperaturen und verschieden lange aufbewahrt wurden, worauf ihr Inhalt zu Kontrollimpfungen an Mäusen diente. Es erwies sich hierbei, daß die Parasiten bei 41° C im Verlaufe 1 Stunde und bei 40° C im Verlaufe von 2 Stunden 15 Minuten nicht getötet werden; die Kontrolltiere erkrankten freilich mit Verspätung (am 6.—7. Tage). Nach 3-stündigem Aufenthalte bei diesen Temperaturen gehen die Trypanosomen zu Grunde. Ebenso werden sie abgetötet in 40 Minuten bei 42° C, in 25 Minuten bei 43° C, in 20 Minuten bei 44° C und schon in 5 Minuten bei 45° C.

Endlich habe ich noch einige Versuche angestellt, um die Wirkung gewisser Desinfizientien auf *Trypanosoma Brucei* kennen zu lernen. Zu diesem Zwecke verdünnte ich 1 Teil trypanosomareichen Blutes mit 9 Teilen einer 0,6-proz. NaCl-Lösung und fügte noch 1 Teil der desinfizierenden Lösungen von unten angegebener Konzentration hinzu. Das Ergebnis war folgendes:

Kali hypermangan., 1-proz.,	tötet in	1	Min.
Hydrarg. bichlor. corros., 0,1-proz.,	" "	2—3	"
Acid. carbol., 5-proz.,	" "	4—5	"
Solveol, 2-proz.,	" "	15—20	"
Acid. boric., 4-proz.,	" "	60	"

II. *Trypanosoma Elmassiani*.

Weisse Ratten und Mäuse. Nach Lignières schwankt die Empfänglichkeit dieser Tiere gegenüber dem Mal de Caderas je nachdem, ob das Infektionsmaterial von derselben oder von einer anderen Tierart stammt. In letzterem Falle treten bei den weissen Ratten und Mäusen die Trypanosomen nach subkutaner Infektion in 4–5 Tagen im Blute auf und erfolgt der Tod nach 7–12 Tagen; nach intraperitonealer Infektion sind die entsprechenden Termine 3–4 resp. 5–7 Tage. Direkte Ueberimpfung von Ratte auf Ratte ergibt bei subkutanem Verfahren eine Inkubation von 36–48 Stunden (Tod nach 4–6 Tagen), bei intraperitonealem eine solche von 20–24 Stunden (Tod nach 4 Tagen). Graue Ratten und Mäuse sind etwas resistenter (Inkubation von 2 Tagen nach Einführung in die Bauchhöhle und von 4 Tagen nach Einspritzung unter die Haut). Bei ihnen dauert nach Elmassian und Migon die Inkubationsperiode sogar 5–8–12 Tage. Mir selbst ist es nicht gelungen, eine derartige Bedeutung der Tierart, wie sie Lignières beschreibt, zu konstatieren. Meines Dafürhaltens ist die Ursache des Unterschiedes eine quantitative; im Blute der verschiedenen Tiere können eben verschiedene Trypanosomenmengen vorhanden sein, und bei den Mäusen sind dieselben immer reichlicher als bei anderen Arten. In meinen Versuchen erkrankten die Mäuse bei intraperitonealer Infektion nach 15–20 Stunden und fielen nach 1–2 Tagen; bei subkutaner Infektion nach 24–48 Stunden resp. nach 4–5 Tagen. Für die weissen und grauen Ratten waren die entsprechenden Termine nach intraperitonealer Einführung 19–24 Stunden resp. $3\frac{1}{2}$ – $4\frac{1}{2}$ Tage, nach subkutaner Einspritzung 2–3 Tage resp. 5–11 Tage. Die Zahl der Trypanosomen im Blute wuchs bei diesen Tieren mit jedem Tage und wurde gegen das Lebensende hin eine ungeheuerere.

Bei den Meerschweinchen erschienen in den Versuchen von Lignières die Trypanosomen im Blute am 4. Tage nach Einführung in die Bauchhöhle und am 4.–10. Tage nach Applikation unter die Haut. Die Krankheit nahm im allgemeinen einen protrahierten Verlauf und die Tiere lebten $2\frac{1}{2}$ –6 Monate. Die Trypanosomen fanden sich in ihrem Blute nur in geringer Anzahl. Elmassian und Migon halten die Meerschweinchen für wenig empfindlich gegenüber dem Mal de Caderas. Bei meinen Meerschweinchen traten die Trypanosomen, intraperitoneal eingeführt, nach 2–3, bisweilen schon nach 1 Tage im Blute auf (der Tod erfolgte nach 11–39 Tagen); nach subkutaner Infektion waren die Folgeerscheinungen noch unregelmäßiger, indem die Tiere nach 3–9 Tagen erkrankten und in 12–26 Tagen zu Grunde gingen. Auch hier, wie bei der Nagana, konnte ich mich überzeugen, daß nicht alle Meerschweinchen für die Infektion empfänglich sind; manche Tiere mußten mehrfach geimpft werden, ehe sie ein positives Resultat ergaben. Bei einigen schwanden die Trypanosomen wieder aus dem Blute, ohne daß dadurch letzteres seine Ansteckungsfähigkeit einbüßte. Dafür entwickelten sie sich bei denjenigen Meerschweinchen, bei denen die Infektion sofort (mehr als 60 Proz. der Fälle) oder nach wiederholter Impfung haftete, in ungeheurer Menge. Deshalb scheint mir der Organismus dieser Tiere wenn auch nicht besonders empfindlich, so doch sehr wohl geeignet zur Entwicklung der Parasiten.

Bei den Kaninchen beobachtete Lignières das Auftreten von *Trypanosoma Elmassiani* im Blute 2–3 Tage nach intravenöser und

4—8 Tage nach subkutaner Einführung. Obwohl ihre Zahl gering blieb, verlief die Krankheit schwer und stets tödlich. Elmassian und Migon halten die Kaninchen für wenig empfänglich. Bei mir erkrankten diese Tiere nach intraperitonealer Infektion nach 2 Tagen (Tod in 15 bis 17 Tagen), nach intravenöser Infektion in weniger als 24 Stunden (Tod in 22 Tagen). Wie bei den naganisierten Kaninchen, so schwanden auch hier die Parasiten bisweilen aus dem Blute, welches trotzdem seine Ansteckungsfähigkeit für Mäuse beibehielt. In solchen Fällen gelang es mir immer, noch bei der Sektion im Herzblute lebende Trypanosomen aufzufinden.

Die Hunde, welche Lignières subkutan infizierte, ließen nach 3—5 Tagen die Parasiten im Blute erkennen, die intravenös geimpften schon am 2. Tage; der Tod erfolgte nach 45—79 Tagen. In den letzten Tagen sollen die Trypanosomen sehr rar oder gar nicht anzutreffen gewesen sein. Wenn die Krankheit länger als 30 Tage dauerte, stellten sich oft Lähmungen der hinteren Extremitäten ein, ferner kamen Augenerkrankungen (Iritis exsudativa) zur Beobachtung. Nach Elmassian und Migon dauert bei Hunden die Inkubation 5—6 Tage und die Trypanosomen sind wenig zahlreich im Blute. Von meinen 7 subkutan geimpften Hunden zeigten 4 am 2. Tage, 1 am 3. Tage und 2 am 4. Tage im Blute Trypanosomen, deren Anzahl von Tag zu Tag immer mehr zunahm und bis zum Tode eine sehr bedeutende blieb. Gegen das Lebensende hin wurden die Tiere somnolent; ihr Gang war behindert, indem sie bald auf dem einen, bald auf dem anderen Beine hinkten; bisweilen entwickelten sich auch Paresen; die Augen erschienen mehr oder weniger in Mitleidenschaft gezogen (Iritis, Keratitis); endlich kam es zu Oedemen des Bauches und der Geschlechtsteile. Der Tod erfolgte nach 7—16 Tagen.

Bei einer Katze beobachtete Lignières, daß die Trypanosomen 15 Tage nach der Infektion im Blute auftraten, dann aber bald auf längere Zeit schwanden, bald wieder erschienen. Noch nach 8 Monaten machte dieses Tier einen völlig gesunden Eindruck. Bei jungen Katzen waren die Trypanosomen nach 4—6 Tagen im Blute nachweisbar und führten nach 50—80 Tagen zum Tode. Nach Elmassian und Migon sollen sich die Parasiten im Blute der Katzen schlecht entwickeln. Mein Versuchstier (erwachsene Katze) erkrankte 4 Tage nach der Infektion und fiel nach mehr als 1 Monate. Gegen das Ende hin war sie sehr welk und fraß wenig. Auch bei ihr fand ich ein Oedem der Bauchdecken.

An Ziegen hat Lignières keine Versuche angestellt. Im Blute von Hammeln konnte er niemals Trypanosomen konstatieren, obwohl dasselbe noch bis zum 65. Tage infektiös blieb. Eine Ziege, welche ich am 5. August 1903 infiziert hatte und welche erst im Januar 1904 gefallen ist, ließ während der ganzen Zeit niemals die Parasiten in ihrem Blute erkennen und dennoch hat letzteres sich bis zum Ende des 4. Monats als ansteckungsfähig für Mäuse erwiesen. Äußere Krankheitserscheinungen bot die Ziege nicht, abgesehen von einer gewissen Magerkeit.

Frösche und Tauben sind nach meinen Versuchen unempfindlich für *Trypanosoma Elmassiani*, was auch mit den Beobachtungen anderer Autoren im Einklange steht.

Was die Infektiosität der verschiedenen Körperflüssigkeiten bei dem Mal de Caderas anbetrifft, so liegen hier die Verhältnisse ebenso wie bei der Nagana. Cerebrospinalflüssigkeit,

Pleural-, Peritoneal-, Perikardialexsudat, Galle und Flüssigkeit aus Haut-ödemen sind Träger des Ansteckungsstoffes, Harn dagegen nicht.

Verdünnungsversuche, angestellt in analoger Weise wie oben bei der Nagana angegeben, haben für *Trypanosoma Elmassiani* folgende Resultate ergeben:

Verdünnung	Inkubation	Tod
1 : 5	4 Tage	nach 7 Tagen
1 : 50	4 "	7 "
1 : 500	6 "	9 "
1 : 5000	5 "	7 "
1 : 50000 ohne Effekt.		

Auch bei den Konservierungsversuchen habe ich mich des gleichen Verfahrens bedient wie bei der Arbeit mit *Trypanosoma Brucei*. In der folgenden Tabelle geben die Ziffern an, nach wieviel Tagen bei den geimpften Kontrollmäusen die Trypanosomen auftraten; × = wechselnde Resultate, — = negatives Ergebnis.

Konservierungs- methode	Im defibrinierten Blute			In 0,6-proz. NaCl- Lösung			Im Pferdeblutserum		
Temperatur	—5—0	+ 20	+ 36	—5—0	+ 20	+ 36	—5—0	+ 20	+ 36
Konservierungs- dauer									
1 Tag	3	3	5	3	3	6	3	3	4
2 Tage	4	4	9	4	4	—	4	4	—
3 "	—	6	—	—	×	—	—	8	—
4 "	—	6	—	—	×	—	—	8	—
5 "	—	6	—	—	10	—	—	8	—
6 "	—	7	—	—	—	—	—	8	—

Die Zahlen dieser Tabelle zeigen wiederum, daß die Zimmertemperatur (20° C) am günstigsten für die Aufbewahrung der Trypanosomen ist und daß ein Zusatz von Kochsalzlösung die Ergebnisse unvorteilhaft beeinflusst. Der Aufenthalt im Thermostaten scheint dem *Trypanosoma Elmassiani* in geringerem Grade schädlich zu sein als dem *Trypanosoma Brucei*.

Die Wirkung der Wärme auf die Trypanosomen des Mal de Caderas wurde, wie oben angegeben, in Glaspipetten im Wasserbade geprüft und ergab Resultate, welche mit denen von Lignières fast völlig übereinstimmen. Die Abtötung fand statt: Bei 40° in 4 $\frac{1}{2}$ Stunden, bei 41° in 4 Stunden, bei 42° in 40 Minuten, bei 43° in 25 Minuten, bei 44° in 12 Minuten und bei 45° in 6 Minuten.

Zum Schlusse noch einige Worte über die Virulenz von *Trypanosoma Brucei* und *Trypanosoma Elmassiani*. In den Versuchen von Laveran und Mesnil war die Inkubationsperiode für die Nagana kürzer als in denjenigen von Kanthack, Durham und Blandford; in den meinigen war dieselbe noch kürzer. Eben dasselbe gilt auch für meine Versuche mit dem Mal de Caderas im Vergleich mit denjenigen von Lignières. Die Steigerung der Virulenz dürfte, wie Laveran und Mesnil annehmen, von den zahlreichen Passagen durch den Organismus unserer Laboratoriumstiere abhängen. Auch Lignières bemerkte eine Virulenzsteigerung der Trypanosomen gegen das Ende seiner Versuche hin. Meine Versuche bieten ebenfalls einen Beweis für

diese Annahme, wie aus den Erkrankungsterminen in folgender Tabelle ersichtlich ist.

Tierart	<i>Tr. Brucei</i>		<i>Tr. Elmassiani</i>	
	im Beginn der Versuche	nach vielen Passagen	im Beginn der Versuche	nach vielen Passagen
Mäuse (subkutan infiziert)	3 Tage	1—2 Tage	3 Tage	1—2 Tage
Meerschweinchen (subkut.)	5 „	20 Std. bis 3 Tage	6 „	3 Tage
„ (intrap.)	3 „	2 „	4 „	1—3 Tage

Selbstverständlich werden die Inkubationsperioden noch durch andere Momente als die Virulenz beeinflusst; so sind dieselben bei jungen oder geschwächten Tieren kürzer als bei erwachsenen und völlig gesunden.

Die Ergebnisse vorliegender Untersuchungen lassen sich in folgendes Resumé zusammenfassen:

1) Die künstliche Infektion mit Trypanosomen der Nagana und des Mal de Caderas ruft bei Mäusen und Ratten eine sehr akute Erkrankung hervor, welche weniger als 1 Woche dauert; bei Hunden, Fuchs, Meerschweinchen, Kaninchen und Katzen nimmt die Krankheit einen langsamen Verlauf (1—6 Wochen); bei Ziegen erscheint sie äußerst chronisch; Frösche und Tauben erweisen sich als immun.

2) Durch häufige Passage durch den Tierorganismus steigert sich die Virulenz der Trypanosomen.

3) Werden die Trypanosomen bei mikroskopischer Untersuchung des Blutes geimpfter Tiere (Ziegen, Kaninchen, Katzen) vermisst, so liegt darin kein Beweis, daß die Impfung nicht gehaftet hätte, da ein derartiges Blut sich dennoch als infektiös erweisen kann.

4) Um die Infektion zu stande zu bringen, ist eine äußerst geringe Zahl von Trypanosomen ausreichend, da trypanosomenreiches Blut selbst in Verdünnung von 1 : 5000—1 : 50 000 noch infiziert.

5) Außerhalb des Organismus erhält sich das Leben und die Virulenz der Trypanosomen der Nagana und des Mal de Caderas am längsten (bis zu 6 Tagen) im defibrinierten Blute und bei Zimmertemperatur; Zusätze von Kochsalzlösung oder Serum anderer Tiere sowie niedrige oder Brutschranktemperaturen beeinträchtigen die Konservierungsdauer.

6) Die Trypanosomen sind äußerst empfindlich gegen Erwärmung und desinfizierende Substanzen.

7) Außer dem Blute enthalten den Infektionsstoff noch die Cerebrospinalflüssigkeit, die pleuralen, peritonealen und perikardialen Exsudate, die Galle und die Flüssigkeit der Hautödeme.

8) Unsere Hausfliegen sind nicht im stande, als Krankheitsüberträger zu dienen, wie etwa die Tse-tse-Fliege (*Glossina morsitans*) bei der Nagana oder die *Mosca brava* (*Stomoxys calcitrans*) bei dem Mal de Caderas.

Literatur.

1) Laveran et Mesnil, Recherches morphologiques et expérimentales sur la trypanosome du Nagana ou maladie de la mouche Tse-tse. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1902.) — 2) Kanthack, Durham and Blandford, On Nagana or tse-tse fly disease. (Proceedings of the r. society of London. Vol. LXIV. 1898.) — 3) Bruce, D., Preliminary report on the tse-tse fly disease or Nagana in Zululand, 1895. (Zit. nach Laveran et Mesnil.) — 4) Nocard, Compt. rend. de la soc. de biol. 1901. 4. Mai. — 5) Plimmer u. Bradford, Vorläufige Notiz über die Morphologie und Verbreitung des in der Tse-tse-Krankheit (fly disease oder Nagana) gefundenen Parasiten. (Centralbl.

f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVI. 1899.) — 6) Elmassian, Revista de la soc. med. Argentina. 1902. Zit. nach Lignières. — 7) Lignières, Contribution à l'étude de la trypanosome des équidés Sud-Américains connue sous le nom de „Mal de Caderas“. (Sep.-Abdr. aus Revista de la soc. med. Argentina. 1902.) — 8) Elmassian et Migon, Sur le Mal de Caderas ou flagellose parésiente des équidés Sud-Américains. (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1903.)

Nachdruck verboten.

Neue Helminthen.

Von Dr. v. Linstow in Göttingen.

Mit 11 Figuren.

Die Gelegenheit zur Untersuchung der hier beschriebenen Helminthen verdanke ich der Güte des Herrn A. E. Shipley in Cambridge, dem ich hier nochmals meinen besten Dank ausspreche.

Angiostomum serpenticola n. sp.

aus der Lunge von *Heterodon platyrhinus* Latr., Nordamerika.

Hermaphroditische Weibchen von 4,49 mm Länge und 0,24 mm Breite; am Kopfende steht ein flacher Mundbecher, der Oesophagus, welcher $\frac{1}{1,5}$ der ganzen Länge einnimmt, ist hinten kolbig verdickt. Die dicke Cuticula zeigt Querringel, das Schwanzende von $\frac{1}{5,1}$ Körperlänge ist fein zugespitzt; die Vulva liegt vor der Mitte und teilt die Länge im Verhältnis von 7:10. Die Eier sind dickschalig und 0,065 mm lang und 0,049 mm breit. Die Art ist vivipar und die Embryonen erfüllen zahlreich den Uterus.

Die Vertreter des Genus *Angiostomum* leben als hermaphroditische Weibchen in Lunge und Pleurahöhle von Amphibien und Reptilien, selten von Vögeln. Die Larven entwickeln sich im Freien zu einer Rhabditis-artigen, zweigeschlechtlichen Form, und vermutlich ist das auch bei der hier beschriebenen Art der Fall.

Opisthotrema pulmonale n. sp.

Fig. 1—2.

aus der Lunge von *Halicore australis* = *dugong* L., Torres-Straße, Australien.

Der Körper erscheint, wenn er ausgebreitet ist, oval und löffelförmig, 5,13 mm lang, 3,95 mm breit und nur 0,43 mm dick. Die Seitenränder können sich aber einander nähern, so daß der Querschnitt nun hufeisenförmig erscheint (Fig. 2); ein muskulöser Saum umgibt rings den Rand mit Ausnahme der vorn vom Saugnapf eingenommenen Stelle, und von der Bauchfläche betrachtet, zeigt derselbe 60—70 radiäre Linien, die ebensoviel rechtwinkelige Felder abgrenzen. Der Mundsaugnapf öffnet sich nicht am Scheitelpunkt, sondern ventral, 0,33 mm vom Vorderrande entfernt; ein Pharynx fehlt; der Oesophagus ist sehr eng, 0,026 mm breit und 0,18 mm lang; er teilt sich in 2 Darmschenkel, die bis an das Hinterende verlaufen. Unter der dicken Cuticula liegen Ringmuskeln, unter diesen Längsmuskelbündel, hierunter wieder Ringmuskeln, das Parenchym aber ist von mächtigen Dorsoventralmuskeln erfüllt; der Saum besteht nur aus Dorsoventralmuskeln, ähnlich wie der Saum der großen hinteren Haftscheibe bei *Epibdella Hendorffii*; da, wo der Saum sich ventral an den Körper setzt, stehen Muskeln, die im

Bogen von letzterem auf den Saum übergehen. Die Hoden liegen im hintersten Drittel symmetrisch nebeneinander; sie sind oval und 0,39 mm lang und 0,28 mm breit; sie legen sich an die Innenseite der Darmschenkel und erfüllen fast den ganzen dorsoventralen Querschnitt. Nicht weit hinter der Mitte beginnt ein Rohr, das bis an das Hinterende verläuft und die vielfach gewundene Samenblase enthält; ganz hinten ist das Rohr selber mehr und mehr stark spiralig gewunden. Obgleich ein Cirrus fehlt, nenne ich es, da es völlig homolog ist mit dem entsprechenden Organ bei *Opisthotrema cochleare*, wo aus seinem Hinterende ein großer Cirrus hervorsieht, Cirrusbeutel.

Der Keimstock (Fig. 1, *k*) ist ein kleiner Körper, der hinter der Mitte in der Mittellinie liegt; er ist das vorderste der weiblichen Organe und seine Zellen messen 0,0052 mm; hinter ihm liegt die etwas kleinere Schalendrüse (Fig. 1, *s*) und ihre Zellen, die 0,0065 mm groß sind, haben

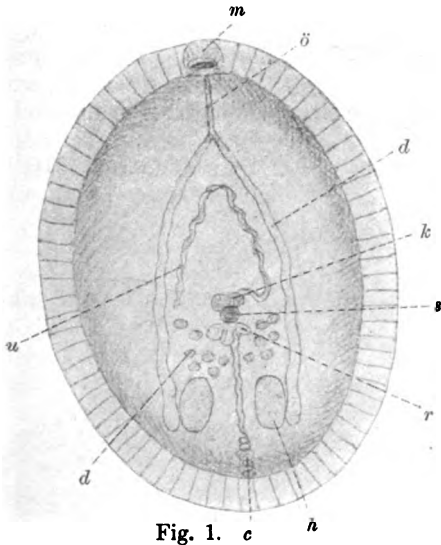


Fig. 1.



Fig. 2.

einen schwarz pigmentierten Kern. Der Dotterstock besteht aus isolierten Drüsen, welche dorsal gelagert sind (Fig. 1 u. 2, *d*), innerhalb der Darmschenkel und zwischen Keimstock und Hoden; seine Zellen messen 0,0039 mm. Der Uterus erscheint in seiner ersten Anlage (Fig. 1, *u*) innerhalb der Darmschenkel im mittleren Drittel des Körpers; später erfüllt er in vielen Windungen den Körper im 2. und 3. Viertel; die Eier sind gelb; an jedem Pol tragen sie einen langen Faden; die Länge beträgt 0,0156 und die Breite 0,0091 mm. Dorsal vom Cirrusbeutel verläuft die Vagina; vorn erweitert sie sich hinter der Schalendrüse zu einem Receptaculum seminis (Fig. 1, *r*) und hinten mündet sie neben dem Cirrusbeutel; auf Querschnitten erscheint sie überall kreisrund (Fig. 2, *v*).

Ein Exemplar (Fig. 2, *I*), welches die Seiten zusammengelegt hatte, hielt in der so gebildeten Hohlrinne ein viel kleineres (Fig. 2, *II*) umfaßt, welches eine Länge von 1,17 mm hatte. Die keimbildenden Geschlechtsorgane, mit Ausnahme der kugelrunden, 0,10 mm großen Dotterstöcke, waren noch nicht entwickelt, wohl aber Vagina, Cirrusbeutel und

Darm, und ich glaube, daß hier das größere Exemplar als Männchen das kleinere als Weibchen befruchtet. Letzteres lag dem ersten der hinteren Hälfte, genau im 47.—81. Hundertstel der Länge an. Wenn diese Befruchtung vollzogen ist, so breitet das Tier sich aus und wird löffelförmig.

Opisthotrema gehört zu den *Monostomiden* und bislang ist außer dieser Art nur noch eine zweite bekannt, *Opisthotrema cochleare* Fischer¹⁾ aus dem Cavum tympani von *Halicore dugong*; die Länge beträgt 11, die Breite 5 mm, die Dicke 0,65 mm. Auch hier ist der Körper löffelförmig ausgehöhlt; die Ventralfläche trägt Stacheln, der muskulöse Cuticularsaum fehlt. Die Gruppierung der Geschlechtsorgane entspricht der von unserer Art; aus dem Ende des Cirrusbeutels ragt ein großer Cirrus hervor. Die parallel dem Cirrusbeutel verlaufende und hinten neben ihm mündende Vagina nennt der Verf. Laurerscher Kanal; auch hier hat der Saugnapf eine ventrale Oeffnung, ein Pharynx fehlt und die Eier tragen an den Polen lange Fäden.

***Cittotaenia quadrata* n. sp.**

Fig. 3—4.

aus dem Darm von *Lagidium peruanum* Cuvieri = Wagn., Peru.

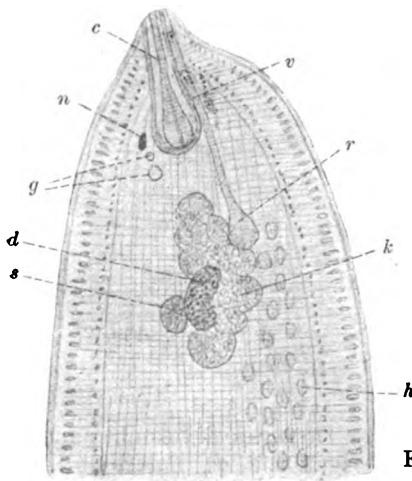


Fig. 3.

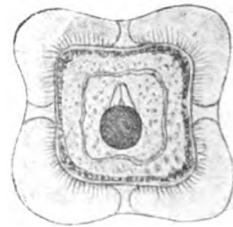


Fig. 4.

Länge 180 mm; Skolex kurz und 0,87 mm breit: ohne Rostellum und Haken. Die kreisrunden Saugnäpfe messen 0,17 mm, der Körper ist gleich hinter dem Skolex erheblich verbreitert; alle Glieder sind kurz, die vorderen sind 1,50 mm breit und 0,079 mm lang, die letzten haben eine Breite von 8 mm und eine Länge von 1,26 mm. Im Parenchym liegt eine Schicht Transversal- und nach außen von ihr eine doppelte Schicht Längsmuskeln, außerdem zahlreiche Dorsoventral- und Transversalmuskeln im Innern; die Dicke der Rindenschicht verhält sich zu der Marksicht wie 1:4; jederseits verläuft ventral vom Cirrusbeutel ein kleineres und weiter nach innen ein größeres Gefäß, vom Rande etwa $\frac{7}{100}$ des Querdurchmessers entfernt, nach außen von ihnen der

1) Zeitschrift f. wissensch. Zool. Bd. XL. 1883. p. 1—41. Tab. I.

Nerv; Kalkkörperchen fehlen. Die Geschlechtsöffnungen stehen randständig, beiderseits, in der Mitte des Gliedrandes. Die Cirren sind sehr breit und kurz und tragen einen dichten, feinen Besatz von Dornen; die Wandung des Cirrusbeutels besteht aus mächtigen Ringmuskeln, nach außen von diesen liegen schwächere Längsmuskeln; die sehr zahlreichen Hoden liegen in der Markschiebt vorwiegend dorsal und sind durchschnittlich 0,088 mm lang und 0,053 mm breit. In jedem Gliede finden sich 2 Gruppen von weiblichen Geschlechtsorganen, die beiderseits etwa bis $\frac{1}{4}$ des Querdurchmessers vom Rande reichen; der Keimstock liegt dorsal, er ist gelappt und nimmt $\frac{1}{7}$ des Querdurchmessers ein; seine Zellen sind 0,016 mm groß. Weiter ventral findet sich der kleine, nierenförmige Dotterstock mit 0,0052 mm großen Zellen, ventral von ihm die noch kleinere, fächerförmige Schalendrüse. Die Vagina verläuft bei der Mündung vor dem Cirrusbeutel, weiter nach innen dorsal von ihm und erweitert sich dorsal vom Keimstock zu einem kleinen Receptaculum seminis. Der Uterus durchzieht die ganze Markschiebt und hat dorsale und ventrale rundliche Vorbuchtungen. Die Eier (Fig. 4) sind vierseitig mit abgerundeten Ecken; sie messen 0,13 mm und sind vierschälig. Die äußere Hülle ist vierteilig, breit und hyalin; dann folgt eine dünne, scharf abgegrenzte Lage, hierauf eine granuliert und zu innerst eine membranöse. Die kugelförmige Oncosphäre mißt 0,015 mm und trägt einen geteilten kegelförmigen Aufsatz oder „birnförmigen Apparat“.

***Bertia forcipata* n. sp.**

Fig. 5—6.

aus dem Darm von *Lagidium peruanum* Cuvieri = Wagn., Peru.

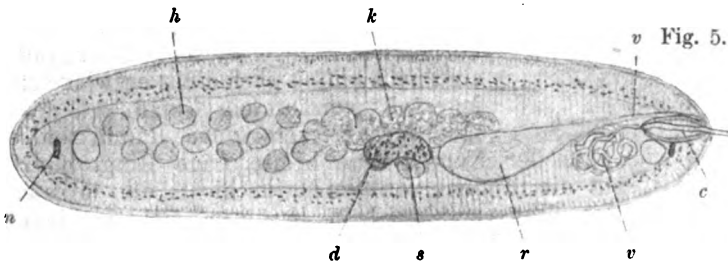


Fig. 6.

Länge 130 mm; der Scolex ist nicht breiter als die folgende Gliederkette. Die runden Saugnäpfe messen 0,12 mm; Rostellum und Haken fehlen. Die Glieder sind vorn 0,070 mm lang und 0,30 mm breit, in der Mitte 1,00 und 3,95 mm, ganz hinten 2,57 mm lang und am Vorderende 1,02, am Hinterrande 1,97 mm breit; nach hinten nimmt also die Länge der Proglottiden zu und die Breite ab; jederseits verläuft ein großes Gefäß $\frac{1}{10}$ des Querdurchmessers vom Rande entfernt und nach außen von ihm der Nerv. Die Rindenschicht ist breit und nimmt $\frac{4}{15}$ des Dorsoventraldurchmessers ein; sie ist von der Markschiebt durch eine Lage Transversalmuskeln abgegrenzt. Nach außen von diesen verlaufen Bündel von Längsmuskeln, im Parenchym zahlreiche Dorsoventralmuskeln; Kalkkörperchen sind nicht vorhanden; die Geschlechtsöffnungen stehen randständig, unregelmäßig abwechselnd, hinten am Gliedrande, etwa am Beginn des letzten Fünftels. Die Hoden sind zahlreich und liegen besonders vorn in der Proglottide; der gestreckt-eiförmige Cirrus-

beutel hat Längs- und Ringmuskeln in seiner Wandung und nimmt $\frac{1}{10}$ des Querdurchmessers ein; ein breites, vielfach gewundenes Vas deferens liegt nach innen von ihm und reicht bis zu $\frac{1}{4}$ des Querdurchmessers nach innen. Der Cirrus ist kurz, breit und unbedornt und hat eine Länge von 0,065 mm und eine Breite von 0,026 mm. Die Vagina verläuft dorsal vom Cirrusbeutel und endigt mit einem großen Receptaculum seminis, das hinten im Gliede liegt und $\frac{4}{10}$ des Querdurchmessers einnimmt; der Keimstock erfüllt die ganze Marksubstanz und liegt nicht in der Mitte des Gliedes, sondern nach der Seite der Geschlechtsöffnung verschoben; er erfüllt $\frac{1}{3}$ des Querdurchmessers, der Dotterstock, welcher ventral von ihm liegt, $\frac{1}{12}$, und die ventral von diesem gelagerte Schalendrüse $\frac{1}{24}$. Der Uterus ist in der ganzen Markschicht ausgebreitet und hat rundliche, dorsale und ventrale Ausbuchtungen. Die Eier sind rundlich, 0,046–0,065 mm groß und haben eine membranöse Hülle; die kugelige Oncosphäre mißt 0,018 mm und der birnförmige Apparat ist hier in ein dreischenkliges Gebilde verwandelt; 2 Schenkel umfassen die Oncosphäre wie eine Zange und der dritte ist von ihr abgewandt.

***Anthobothrium tortum* n. sp.**

Fig. 7–8.

aus *Phoca barbata*.

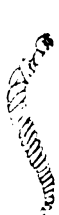


Fig. 7.



Fig. 8.

Bis 23 mm lang und 3 mm breit; die beiden Seitenränder sind verdickt und um die Längsachse strickartig umeinander gedreht. Der Scolex ist von 4 Wülsten umgeben und am Scheitel steht ein Gewirr von Schlingen (Fig. 8). Die Proglottiden sind vorn 0,11, hinten 0,24 mm lang; Kalkkörperchen fehlen, Geschlechtsorgane sind auch hinten noch nicht entwickelt; jederseits verläuft ein Gefäß $\frac{1}{10}$ des Querdurchmessers vom Rande entfernt, nach außen von ihm der Nerv. Eine breite Lage Ring- oder Transversalmuskeln trennt die Rinden- von der Markschicht; die dorsale und ventrale Schicht der Transversalmuskeln berühren sich in dem dünnen, die beiden runden Seitenränder verbindenden Mittelstück beinahe.

Eine breite Lage Ring- oder Transversalmuskeln trennt die Rinden- von der Markschicht; die dorsale und ventrale Schicht der Transversalmuskeln berühren sich in dem dünnen, die beiden runden Seitenränder verbindenden Mittelstück beinahe.

***Bothriocephalus ratticola* n. sp.**

Fig. 9.

aus *Mus rattus* L. (? *alexandrinus* Geoffr.) in einer Cyste der Leber, Singapur.



Fig. 9.

Der Körper ist 120 mm lang, der eiförmige Scolex 2,76 mm, welcher seitlich je eine flache Sauggrube trägt; die Breite beträgt 1,30 mm. Der Körper ist vorn 0,59, hinten 2,57 mm breit. Die Proglottiden sind tief eingeschnitten und sind vorn länger als hinten; die Länge beträgt vorn 0,55, hinten 0,24 mm, das Hinterende ist abgerundet; die

Dicke beträgt hinten 0,97 mm. Die Rindenschicht verhält sich zum Dorsoventraldurchmesser wie 3:11 und ist von der Markschicht durch eine dicke Lage Transversalmuskeln getrennt; nach außen von dieser

verläuft eine breite Lage Längsmuskeln, die in dorsoventral gestellten Bündeln angeordnet sind; dicht unter der Subcuticularschiebt verläuft noch eine zweite, dünnere Lage von Längsmuskelfaserbündeln. In der Markschicht liegen außerordentlich zahlreiche Kalkkörperchen; an den Seitenrändern verläuft jederseits ein Nerv, nach innen von ihm ein größeres und weiter nach innen ein kleineres Gefäß im 20., 23. und 27. Hundertstel des Querschnitts. Trotz der Größe ist die Form eine Larve, die, wie *Cysticercus fasciolaris* Rud. aus der Leber von Ratten und Mäusen, durch ihre äußere Form an ein Geschlechtstier erinnert.

***Tetrarhynchobothrium fluviatile* n. sp.**

Fig. 10–11.

in dichtgedrängten, kugelförmigen Cysten im Bindegewebe von *Malapterurus electricus* Lacép., Nil.

Im Zitterwels des Nil finden sich im Bindegewebe in eng aneinander gelegten 1,97 mm großen, runden Cysten die Larven eines *Tetrarhynchobothrium*. Der Scolex (Fig. 10) ist 0,35 mm lang und hinten 0,088 mm breit; vorn stehen 4 längsovale Saugnäpfe, hinter denen der Körper halsartig verschmälert ist. Die 4 Rüssel sind zurückgestülpt und dicht mit gleichgroßen Haken (Fig. 11) besetzt, die 0,0052 mm messen; Rüsselkolben sind nicht sichtbar.

Tetrarhynchobothrium ist ein Cestoden-Genus, dessen Geschlechtsform nur in meerbewohnenden Fischen, Rochen und Haien lebt; der Zitterwels muß also wohl gelegentlich den Nil verlassen, um das Meer aufzusuchen, was ja auch bei vielen anderen Flußfischen vorkommt.

Zschokke¹⁾ fand in der Schweiz in *Lota vulgaris* die Larve von *Tetrarhynchus erinaceus* Dies., dessen Geschlechtsform in *Raja rubus* vorkommt. Von *Lota vulgaris* ist es bekannt, daß sie außer in Flüssen auch in der Nord- und Ostsee lebt.

Erklärung der Abbildungen.

c Cirrusbeutel, v Vagina, h Hoden, k Keimstock, d Dotterstock, s Schalendrüse, g Gefäß, n Nerv, r Receptaculum seminis.

Fig. 1–2. *Opisthotrema pulmonale*. 1. ausgebreitet, von der Bauchfläche; m Mundsaugnäpf, ö Oesophagus, d Darm, u erste Anlage des Uterus. 2. Querschnitt eines größeren, über die Bauchfläche zusammengeboogenen Exemplars (I), das ein kleineres (II) einschließt.

Fig. 3–4. *Cittotaenia quadrata*. 3. Querschnitt durch den Seitenteil einer Proglottide. 4. ein Ei.

Fig. 5–6. *Bertia forcipata*. 5. Querschnitt durch eine Proglottide, v Vas deferens. 6. ein Ei.

Fig. 7–8. *Anthobothrium tortum*. 7. Tier in natürlicher Größe. 8. Scolex von der Scheitelfläche.

Fig. 9. *Bothriocephalus ratticola*, natürliche Größe.

Fig. 10–11. *Tetrarhynchobothrium fluviatile*. 10. Scolex, 11. ein Rostellum-Haken.

1) Recherches sur l'organisation et la distribution zoologique des vers parasites d'eau douce. Gand, Leipzig u. Paris, 1884, p. 35–37, Tab. IX, Fig. 8, A u. B.



Fig. 10.



Fig. 11.

Nachdruck verboten.

Ueber Grundgesetze der Immunität.

- I. Ueber antitoxische und antiendotoxische Immunität und über die Eigenschaften der Endotoxine.
- II. Ueber die zwischen den Endotoxinen und Cytotoxinen (Zellgiften, Eiweißgiften) bestehenden Beziehungen.
- III. Ueber die für die therapeutische Anwendung bakterizider Sera geltenden Grundsätze.

[Aus der k. med. Universitäts-Poliklinik zu Berlin. Direktor: Geheimrat Prof. Dr. H. Senator.]

Von Dr. Alfred Wolff, Assistent der Universitäts-Poliklinik.

(Schluß.)

Es wäre mir wohl nicht gelungen, bei den komplizierten, hier vorliegenden Verhältnissen für diese rätselhaften Erscheinungen bei Immunisierungsversuchen eine Erklärung zu finden, wenn ich nicht zufällig durch andere, neben den Endotoxinstudien betriebene Versuche, auf die richtige Bahn gekommen wäre.

Versuche mit Organimmunisierungen. Bei diesen Experimenten lagen glücklicherweise die Verhältnisse viel eindeutiger: um die Frage nach der Spezifität der Leukocyten der Lösung zu nähern, injizierte ich Kaninchen subkutan und peritoneal 3—5 ccm Milz-, Lymphdrüsen- und Knochenmarkzerreibungen vom jungen Kalbe. Die 1. Injektion wurde stets anstandslos vertragen, die 2. meist, zwischen der 3. und der 5. gingen die Tiere ausnahmslos unter den oben geschilderten Erscheinungen zu Grunde. Dieses mir seiner Zeit sehr unerwünschte Resultat trat auch ein, wenn ich von der 2. Injektion ab die Dosen verringerte, statt sie, wie es sonst in der Immunisierungstechnik üblich ist, zu vergrößern.

Die injizierten Zellen an sich können kein schnell resorbierbares Gift enthalten, sonst würde es nicht möglich sein, daß die 1. und event. auch die zweite Injektion so anstandslos vertragen wird.

Der Unterschied des sonst scheinbar normalen Tieres nach einigen Injektionen gegenüber dem nicht vorbehandelten Tiere besteht darin, daß die injizierten körperfremden Zellen schneller der Lyse verfallen, wovon man sich ja auch überzeugen kann, wenn man bei peritonealer Injektion den Prozeß mittels der Pfeiffer-Issaeffschen Kapillarmethode verfolgt. Die morphologische Beobachtung der Auflösung von körperfremden Zellbestandteilen im normalen und immunisierten Tierperitoneum, die ich seiner Zeit hauptsächlich in ihren Beziehungen zur Metschnikoffschen Phagocytenlehre studierte, sind auch für die uns hier beschäftigende Endotoxinfrage von großer Bedeutung. Es sei mir gestattet, von meinen Versuchsergebnissen die wichtigsten mitzuteilen (Berl. klin. Wochenschr. 1903. No. 17—20):

Morphologie der Lyse von Taubenbluterythrocyten im Meerschweinchenperitoneum. Bei der 1. Injektion von Taubenbluterythrocyten ins Meerschweinchenperitoneum bleiben dieselben 3 bis 4 Stunden völlig unverändert, nach 12—15 Stunden wird ein polynukleäres Exsudat beobachtet, es finden sich einzelne Makrophagen und eine geringe Phagocytose. Die Phagocytose nimmt allmählich zu, nach 64 Stunden sind alle Makrophagen mit Taubenbluterythrocyten dick vollgestopft, eine extracelluläre Auflösung ist nur ganz vereinzelt zu beobachten.

Wird die Injektion nach 5 Tagen wiederholt, ist jetzt schon nach $1\frac{1}{4}$ Stunden die Phagocytose lebhaft im Gange. Daneben besteht dann jedoch auch eine extracelluläre Auflösung der Blutkörperchen.

Technik: Ungefärbtes Präparat, vitale Neutralrotfärbung, Methylenazur.

Nach weiteren 10 Tagen, bei der 3. Taubenbluterythrocyteninjektion in das Peritoneum desselben Meerschweinchens beginnt schon nach $\frac{1}{4}$ Stunde die extracelluläre Hämolyse, die innerhalb $2\frac{3}{4}$ Stunden völlig beendet ist, bevor Phagocyten in irgendwie nennenswerter Zahl auf dem Schauplatze des Auflösungs Vorganges erschienen sind.

Ganz gleichartige Beobachtungen kann man machen, wenn man menschliche lebende Spermatozoen ins Meerschweinchenperitoneum spritzt. Bei der 1. Injektion findet man nach 24 Stunden noch eine große Zahl von Spermatozoen bewegungsfähig, ein Beweis dafür, daß das Meerschweinchenserum gegenüber menschlichen Spermatozoen ursprünglich keine spermatoziden Eigenschaften besitzt. Bei der 2. Injektion tritt wieder die Phagocytose, bei der 3. die extracelluläre Lyse in den Vordergrund der Erscheinungen.

Der morphologische Beweis ist so erbracht, daß die Lyse beim immunen Tiere beschleunigt abläuft. Es geht aus diesen Versuchen also hervor, daß der Vorgang der Auflösung der Zellen speziell der extracellulären, im vorbehandelten, sogenannten Immuntiere gegenüber dem Verhalten beim normalen nicht vorbehandelten Tiere beschleunigt abläuft, und zwar so beschleunigt, daß die extracelluläre Auflösung schon vollständig abgelaufen ist, bevor die durch den chemotaktischen Reiz der aufgelösten Eiweißsubstanzen herbeigezogenen Leukocyten auf dem Platze, an dem sich die extracelluläre Lyse vollzog, eintreffen konnten, so daß ihnen nach ihrem Erscheinen für eine phagocytäre Tätigkeit nichts mehr zu tun übrig bleibt.

Diese wichtigen morphologischen Versuche geben uns den Schlüssel für die Deutung unserer Versuche.

Wir wissen jetzt, daß jedes körperfremde Eiweiß, subkutan, intravenös oder peritoneal zugeführt, als ein Gift aufzufassen ist. Die Giftwirkung körperfremder Zellen beruht ebenfalls auf dem in ihnen enthaltenen körperfremden Eiweiß, welches zur Ausübung einer Wirkung in einen löslichen Zustand übergeführt werden muß. Je schneller diese Lösung erfolgt, um so stärker äußert sich die Giftwirkung und daher erklärt es sich, daß mit der steigenden Zahl der Injektionen die pathologischen Erscheinungen sich immer steigern, bis sie schließlich zum Tode führen. Die langsame Resorption nach der 1. Injektion der körperfremden Zellen wird — von geringer Temperatursteigerung und Abmagerung abgesehen — anstandslos ertragen.

Die Bedeutung der in den Leukocyten erfolgenden Lyse. In der früheren Arbeit über die Endotoxine (Berl. klin. Wochenschr. 1903. No. 17—20: Beiträge zur Kenntnis der morphologischen Vorgänge bei der Infektion und Immunität) habe ich schon die Frage aufgeworfen, ob etwa die Leukocyten und Epithelien zu dieser Verringerung der Giftwirkung beitragen, indem fermentative resp. oxydative Prozesse in denselben eine Abschwächung des Giftes herbeiführen. Es erscheint mir jetzt nach allen weiteren Versuchen sehr wahrscheinlich, daß sie die Resorption verlangsamen und durch ihre oxydativen, mit Neutralrot leicht nachweisbaren Prozesse einen Teil des körperfremden Eiweißes oxydieren und unschädlich machen ¹⁾.

1) Die Rolle der Leukocyten bei der Infektion steht noch immer im Mittelpunkt der Diskussion.

Es scheint mir erwiesen zu sein, daß die Leukocyten zur Bildung der Immunkörper nicht beitragen und Metschnikoff, der Schöpfer der Phagocytenlehre, hat

Celluläre und bakterielle Lyse. Wir treffen also bei der Lyse von körperfremden Zellen auf Verhältnisse, die sich mit den Ergebnissen, die mit bakteriellen Endotoxinen gewonnen wurden, in Parallele setzen lassen. In gewisser Beziehung liegen die Verhältnisse sogar viel klarer, als bei den Bakterien. Die eingeführten körperfremden Zellen sind, im Gegensatz zu den Bakterien, nicht fortpflanzungsfähig und der Giftstoff ist daher nicht vermehrbar; hierdurch werden eine Reihe von Komplikationen ausgeschaltet, welche die Beurteilung der aktiven und passiven Immunität störend beeinflussen, da die zwischen der im aktiv immunisierten Tiere auftretenden Bakteriolyse und der gleichzeitig hierdurch erfolgenden Giftbildung bestehenden nicht erkannten Beziehungen viele Erscheinungen lange Zeit nicht verständlich erscheinen ließen, z. B. woher es kommt, daß das aktiv hochimmunisierte Tier an einer Infektion zu Grunde geht, während das passiv immunisierte — und zwar eventuell sogar das mit seinem eigenen aktiven Serum passiv immunisierte — die Infektion übersteht.

Die Injektion von nicht vermehrungsfähigen Körperzellen schafft klarere Versuchsbedingungen. Da es bei der Injektion von Körperzellen infolge der mangelnden Vermehrungsfähigkeit der körperfremden Eiweißsubstanz, im Gegensatz zu Bakterienversuchen, nicht viel darauf ankommt, ob das lytische Serum sofort *loco injectionis* disponibel ist, oder nicht, kann bei Untersuchungen über „Immunität“ gegenüber körperfremdem Eiweiß und Zellen aktive und passive Immunität im wesentlichen gleich gesetzt werden.

In Analogie mit den früher geschilderten Versuchen, daß Zufügung von Immunserum einige Stunden nach der Infektion beim Cholera-, Typhus- und nach Fritz Meyer auch beim Streptokokken-infizierten Tiere den Tod gegenüber dem Kontrolltiere beschleunigt, beobachten wir bei Versuchen mit Körperzellen, daß vom immunisierten Tiere Injektionen nicht vertragen werden, welche das nicht vorbehandelte Tier fast ohne alle Störungen aushält.

Wir konnten uns nun ganz direkt unter Benutzung der Pfeiffer-

unter dem Druck Pfeifferscher Argumente diese Position geräumt und nur noch behauptet, daß die Leukocyten die Bildner des Komplements sind.

Es kann daher unter diesen Umständen nicht in Betracht kommen, daß Anhänger der Phagocytenlehre, welche den neuen Standpunkt Metschnikoffs noch nicht kennen, immer wieder eine völlig unbewiesene Immunkörperbildung durch die Leukocyten postulieren.

Die Bildungsstelle des Komplements ist bisher völlig unbekannt (cf. Ascher, Die Leukocyten als Komplementbildner [Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. p. 449]), und somit kann die Annahme, daß die Leukocyten die Bildner sind, ebenso gut falsch, wie richtig sein.

Wenn so eine Rolle der Leukocyten bei der eigentlichen „Immunität“ nicht anzunehmen ist, so wäre es doch falsch, diese Gebilde als etwas völlig Nebensächliches anzusehen. Die im März 1903 von mir geäußerte Ansicht, daß die Wirkung der Leukocyten in ihrer oxydativen Tätigkeit auf die aufgenommenen Bakterien bestehe, scheint mir immer mehr gestützt zu werden, obwohl ich damals ausdrücklich vermerkte, daß diese Ansicht im Gegensatz zu R. Pfeiffer stand.

Wir wissen nun, daß durch Oxydationen die Wirkung der Toxine ganz außerordentlich, bis zum Vieltausendfachen, vermindert wird und ganz neuerdings (Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 25) hat Straub gezeigt, daß die merkwürdige Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Infusorien, Toxine etc. sicherlich zum größten Teile in der Eigenschaft der fluoreszierenden Stoffe beruht, als Ueberträger oxydativer Prozesse zu fungieren.

Daß nun in den Leukocyten, speziell in den phagocytär sich betätigenden, sehr lebhaft oxydative Prozesse sich abspielen, ist sehr leicht nachzuweisen, wenn man sich der vitalen Färbemethoden bedient.

Issaefschens Kapillarentnahmemethode davon überzeugen, daß im immunen Tiere die Auflösung der injizierten Zellen sehr beschleunigt erfolgt und zwar zum großen Teil extracellulär. Da nun diese Löslichmachung und Resorption der körperfremden Eiweißstoffe beim Versuchstiere so schwere, zum Tode führende Erscheinungen auslöst, und da nur das über schnell lytisch wirkende Kräfte verfügende Immuntier der Giftwirkung unterliegt, so ist damit der Beweis erbracht, daß es eine Antitoxinbildung gegenüber den nativen und gegenüber den in den Orgazellen enthaltenen Eiweißsubstanzen nicht gibt.

Analogie mit den bakteriellen Endotoxinen. Ganz das gleiche Verhalten hatten die bakteriellen Endotoxine gezeigt, und wir kommen hier zu dem erfreulichen Ergebnis, daß die weitere Forschung keine Komplikationen, sondern eine sehr wesentliche Vereinfachung der vorliegenden Verhältnisse ergibt. **Die bakteriellen Endotoxine bilden keine Sonderklasse von Giften mit besonderen, nur für sie geltenden Gesetzen, sondern die Endotoxine sind körperfremdes Eiweiß, giftig, wie jedes körperfremde Eiweiß.**

Die Endotoxine sind nur körperfremdes Eiweiß. Mit dieser Auffassung der Endotoxine als körperfremdes Eiweiß und mit der Erbringung des Nachweises, daß bakterielle Endotoxine und körperfremdes Eiweiß sich in den Reaktionen, welche sie im Tierkörper auslösen, identisch verhalten, kann wieder ein Begriff fallen, welcher in der Immunitätslehre zu vielen Komplikationen geführt hat.

Man unterschied nämlich außer den Toxinen und Endotoxinen noch Proteine, Bakterieneiweißsubstanzen, welchen eine nur geringe Giftigkeit und keine Spezifität zugeschrieben wurde. Es hat sich jedoch gezeigt, daß z. B. in einer filtrierten und durch wiederholtes Waschen von allem Toxin befreiten Diphtheriekultur nur noch Endotoxine zurückbleiben und für Cholera- und Typhuskulturen besteht keine Notwendigkeit, neben den Endotoxinen noch ein Protein anzunehmen, wenn man die beiden Begriffe nicht überhaupt identifizieren will.

Daß den Proteinen der einzelnen Bakterien jede Spezifität abgesprochen wurde, erklärt sich durch die bisher übliche Darstellungsweise, bei der sehr eingreifende chemische Prozeduren (Extrahieren mit überhitztem Wasser im Autoklaven, Auskochen mit Wasser, Extrahieren mit verdünnten Alkalien) zur Anwendung gelangten, welche die Giftigkeit der als labil geschilderten Endotoxine herabsetzten und zu einer Aufhebung der Spezifität führten.

Die Bakterienproteine sind demnach als denaturierte Endotoxine aufzufassen, jedoch wäre es vielleicht wünschenswert, den Begriff der Endotoxine durch den weniger zu Verwechslungen führenden „Proteine“ zu ersetzen.

Die Giftigkeit des Bakterieneiweißes tritt erst zu Tage, wenn diese Eiweißsubstanzen in lösliche, resorbierbare Form gebracht werden¹⁾.

1) Es ist hier zu bemerken, daß diese Löslichmachung auch außerhalb des Tierkörpers durch Autolyse erfolgen kann. So erklären sich die zahlreichen Berichte speziell französischer Autoren über toxisch wirkende Cholera- und Typhusfiltrate bei Benutzung von alten Kulturen, während in frischen Kulturen derartige Wirkungen vermißt wurden (Literatur s. p. 689). Jedoch sind die Endotoxine, die der Tierkörper erst selbst in Freiheit setzt, meist wirksamer, da bei der bekannten Empfindlichkeit der Endotoxine eine Schädigung sehr naheliegt.

Es sind also diese in die Kulturfiltrate übergehenden Giftstoffe, die sich in alten, „ausgelaugten“ Kulturen so viel zahlreicher finden, autolytisch aus den Bakterien in das Kulturmedium übergegangene Endotoxine, deren Wirkung absolut dieselbe ist, wie die

Dies geschieht — wenn auch langsam — im normalen, nicht vorbehandelten Tiere, dagegen schnell und stürmisch im Immuntiere.

Bei bakteriellen Infektionen ist die schnelle Bakteriolyse von günstiger Wirkung, indem die Vermehrung der Träger der Giftsubstanz verhindert wird und dadurch die Endotoxinmenge unterhalb der Dosis letalis minima bleibt.

Eine Antitoxinbildung gegenüber der Giftwirkung des körperfremden Eiweißes findet nicht statt.

Es muß vorläufig die Frage unentschieden gelassen werden, ob die festgestellte vermehrte Empfindlichkeit nur auf der beobachteten beschleunigten Resorption beruht, ob das entscheidende Moment die Ausschaltung der mit oxydativen Fähigkeiten begabten Leukocyten nach erreichter „Serumimmunität“ darstellt oder ob hier ein Mechanismus spielt, der in der antitoxischen Immunität als „Ueberempfindlichkeit“ bezeichnet wird.

Gleichartige Einzelbeobachtungen in der Literatur. Es sind hier einige Einzelbeobachtungen von französischen Autoren anzuführen, die bisher in der Literatur mehr Curiosa darstellten, die sich jedoch vollkommen mit den von uns für die Endotoxine aufgestellten Grundsätzen und mit unseren zahlreichen Beobachtungen decken.

Arthus, *Injections répétées de sérum de cheval chez le lapin.* (Soc. de biol. 1903. No. 22.)

Spritzt man einem Kaninchen (subkutan, intravenös oder peritoneal) Pferdeserum ein, so erfolgt keine Reaktion und man ersieht daraus, daß Pferdeserum für das Kaninchen nicht toxisch wirkt. Wiederholt man die Injektion, so bemerkt man nach einigen Injektionen, daß schon nach kleinen Dosen leichte oder auch starke Reaktionen auftreten. Für das vorbehandelte Kaninchen ist das Serum also toxisch geworden.

So resorbiert sich z. B. bei subkutaner Applikation das subkutan injizierte Serum immer schwieriger, es kommt zu Hautrötungen, Infiltrationen, ja selbst zu Gangrän, welche Erscheinungen nicht auf die durch die Injektionen bewirkte Hautreizung zu schieben ist, da die Erscheinungen ebenso auftreten, wenn die vorhergehenden Injektionen peritoneal appliziert wurden; sie ist ebensowenig auf die Anhäufung großer Mengen von artfremdem Serum zu beziehen, da eine einmalige Injektion von 10—40 ccm vertragen wird, während die wiederholte Injektion von auch nur 1 ccm zu den oben erwähnten Erscheinungen führt.

Bei einem genügend mit Pferdeserum vorbehandelten Kaninchen ist die intravenöse Injektion von ca. 2 ccm Pferdeserum tödlich und zwar fast augenblicklich. Die Erscheinungen bestehen in Polypnoe (200—250 Atemzüge in der Minute). Ist die Vorbehandlung noch nicht so weit vorgeschritten, so treten bedrohliche Erscheinungen auf, die in ca. $\frac{1}{4}$ Stunde vorübergehen, danach tritt jedoch eine Kachexie ein, an der das Tier schließlich zu Grunde geht. Analoge Befunde finde ich in der Arbeit von Hamburger und Dehne, Experimentelle Untersuchungen über

der direkt aus den Bakterienleibern gelösten Endotoxine. Es gelingt mit derartigen Filtratgiften auf keine Weise, antitoxisches Serum zu erzeugen, das dem Gesetze der Multipla folgt. Es hat somit die noch herrschende Ansicht, die auch von C. Oppenheimer auf p. 57 seiner „Toxine und Antitoxine“ vertreten wird, keine Berechtigung, daß in Cholera- etc. Kulturen neben den an Vibriolen gebundenen Endotoxinen noch ein Toxin vorhanden ist, das nur aus dem Grunde von so schwacher Wirkung ist, weil man bisher nicht das geeignete Kulturnährmedium hat finden können. Auch das abgeschwächte Toxin — und zwar gerade dieses — würde nach unseren bisherigen Kenntnissen antitoxische Sera erzeugen, die dem Gesetze der Multipla folgen!

die Folgen parenteraler Einverleibung von Pferdeserum (Wiener klin. Wochenschr. 1904. No. 29):

„Nun wissen wir überhaupt nicht, daß 14 Tage nach einer Serum-injektion noch Veränderungen bestehen, wohl aber wissen wir, daß eine abermalige Injektion bei einem schon mit demselben Serum injizierten Tiere eine schwere Schädigung setzt, die unter Umständen zum plötzlichen Exitus führen kann, wenigstens bei intravenöser Injektion (Arthus, v. Pirquet und Schick), vielleicht auch bei subkutaner Injektion (eigene bisher nicht veröffentlichte Versuche).“

Rist, Sur la toxicité des corps de bacilles diphthériques. (Soc. de biol. 1903. No. 25.)

Die Befunde des Autors sind folgende: Ein Meerschweinchen trägt gewöhnlich die peritoneale Einverleibung von 0,001 g getrockneter Bacillensubstanz, bisweilen werden auch 0,005 g vertragen; die Tiere magern dann ab, erholen sich aber oft nach Verlauf einer Woche wieder. Wiederholt man die Injektion, wenn das Tier sich wieder völlig erholt hat und injiziert dieselbe Dosis, so ist die Wirkung eine schlimmere, es entstehen oftmals Paralysen und die nochmalige Wiederholung der Injektion führt den Tod herbei; auch dann, wenn seit der letzten Injektion ein Monat verflossen ist. Die Erfolge sind auch dann dieselben, wenn man die Dosen der Diphtheriebacillenleiber langsam zu steigern versucht.

Diphtherieheilserum vermag den Tod nicht zu verhindern.

Wendet man jedoch schnell tödliche Dosen von Diphtheriebacillenleibern an (mehr als 0,02 g), so scheint das Heilserum den Tod zu verzögern. Der schnelle Tod tritt unter den pathologisch-anatomischen Erscheinungen des Diphtherietoxintodes auf, während der langsame Verlauf durch Abmagerung, Paralysen und Zwerchfelllähmung charakterisiert ist; der schnell eintretende Tod scheint also durch an den Leibern haftendes wirkliches Toxin bedingt zu sein, dessen Wirkung durch das gleichzeitig injizierte Antitoxin aufgehoben wird, wodurch es erst ermöglicht wird, daß die langsam lösliche Substanz der Diphtheriebacillenleiber zur Wirkung kommt.

Auf diese schwere Löslichkeit führt es der Autor zurück, daß die Laboratoriumstiere so schwierig zu immunisieren sind.

Der Autor glaubt, daß die bei klinischer Diphtherie beobachteten Paralysen, die Myocarditis etc. vielleicht nicht auf das Diphtherietoxin, sondern auf die Wirkung der Diphtheriebacillenleiber zurückzuführen sind.

Es stehen die Befunde in völliger Uebereinstimmung mit den unserigen, nur wissen wir aus unseren nicht so spezialisierten Untersuchungen, daß der Mangel an Antitoxinbildung nach Injektion von Endotoxinen nicht auf der schweren Löslichkeit der Endotoxine beruht, da sie auch nach Einverleibung leichtlöslicher Endotoxine ausbleibt, sondern daß es sich hier um ein Grundgesetz der Grenzen des Könnens des Tierorganismus handelt.

Angaben über Antientdotoxine in der Literatur¹⁾. Andererseits fehlt es nicht an gewissen Angaben von Autoren, welche eine Immunität

1) Chantemesse, Toxine typhoide soluble. (Progr. méd. 1898. p. 245.) Cit. nach Oppenheimer, Handbuch der Mikroorganismen. Jena (G. Fischer) 1903. Lösliches Typhustoxin. (Wien. med. Blätter. 1898. No. 18. p. 279.)

Rodet, A. u. Guéchoff, G., Versuche, die Methode der Collodiumsäckchen auf die Kenntnis der toxischen Produkte des Eberth'schen Bacillus und des Bacterium coli anzuwenden. (Soc. de biol. T. LII. 1900. p. 962 u. 965.)

gegen Typhus-, Cholera- und Pesttoxine, das sind also Endotoxine, erzielt haben wollten.

Derartige Veröffentlichungen beziehen sich nur auf Bakterienendotoxine und ist die Richtigkeit der Beobachtungen schon von Pfeiffer u. A. angefochten worden. Es handelt sich teils um Fehler der bakteriologischen Technik, die gerade bei diesen Versuchen als eine überaus schwierige zu betrachten ist, teils nur um unrichtige Deutung der Ergebnisse. Es ist in keinem Falle nachgewiesen, daß eine derartige Immunität dem Gesetze der Multipla folgt und es kommen eventuell bei den bakteriellen Endotoxinen die bereits erwähnten besonderen Verhältnisse bei der subkutanen Zufuhr der Endotoxine in Betracht.

Eine der letzten Angaben über diesen Punkt findet sich in den *Compt. rend. de la soc. de biol.* T. LV. No. 33 von Dembinski. Es soll nach Strauß und diesem Autor gelingen, Kaninchen an die Injektionen von Tuberkelbacillen, speziell auch an intracerebrale zu gewöhnen. Doch geht aus den Versuchsprotokollen des Autors selbst hervor, daß die Resistenz der immunisierten Tiere eine sehr begrenzte ist. Nach Injektion von sicher tödlichen Dosen (der Autor nennt es allerdings zwei- und mehrfach tödliche Dosis) sterben die Tiere ebenso schnell, wie die Kontrolltiere.

Dies wären in kurzen Zügen die großen Gesetze, denen die Giftwirkung des körperfremden Eiweißes und der Endotoxine folgt. Wir wollen uns jetzt der Besprechung der quantitativen Verhältnisse der Giftwirkung zuwenden. Wie wir schon bei den bakteriellen Endotoxinen auseinandergesetzt haben, ist die Stärke der Giftwirkung bei den einzelnen Substanzen naturgemäß eine sehr verschiedene.

Die Giftigkeit der nativen Sera ist eine relativ sehr geringe, viel höher ist die Giftigkeit der Eiweißsubstanzen der Organzellen, deren Giftwirkung nicht viel geringer anzuschlagen ist, als die der stark endotoxisch wirkenden Bakterien. Eine ganz besonders starke Giftwirkung üben menschliche Spermatozoen aus; es geht dies aus von uns angestellten Versuchen hervor, über die wir sofort berichten wollen, da dieselben gewissermaßen als ein Paradigma gelten können.

Versuchsanordnung. Alle folgenden Angaben über die Giftwirkung der körperfremden Eiweißsubstanzen beziehen sich auf Versuche, die an Kaninchen, Meerschweinchen und zum Teil an Mäusen angestellt sind. Es ist nach den mit den Endotoxinen gewonnenen Erfahrungen von vornherein anzunehmen, daß Versuche mit verschiedenen Tierspecies quantitativ verschiedene Resultate ergeben werden.

II. Ueber die zwischen den Endotoxinen und Cytotoxinen (= Zellgiften, Eiweißgiften) bestehenden Beziehungen.

Die ersten der oben geschilderten Organinjektionsversuche liegen über 2½ Jahre zurück. Ich zögerte, mit meiner Deutung an die Öffentlichkeit zu treten, doch ergaben die Versuche während dreier Jahre stets identische Resultate, speziell scheinen mir die Injektionsversuche mit Spermatozoen eindeutig und einwandfrei zu sein. Es sei mir daher gestattet, am Schlusse dieses Abschnitts über die betreffenden Versuche zu berichten.

Metchnikoff, Roux, Tanvelli-Salimbeni, *Toxine et antitoxine cholérique.* (Annal. de l'Inst. Pasteur. T. X. 1896. p. 257.)

Courmont et Doyon, *Effets de la toxine cholérique.* (Arch. de physiol. T. XXVIII. 1896. p. 785.) Cit. nach Oppenheimer.

Spermatozoenversuche. Die Spermatozoen sind zu derartigen Untersuchungen besonders geeignet, weil sie einen ganz besonders hohen Grad von Giftigkeit besitzen. Da es nun schwer ist, von Tieren vollentwickelte Spermatozoen zu erhalten, benutzte ich menschliches Material.

Die an Meerschweinchen in 8 Fällen vorgenommenen Untersuchungen ergaben immer das absolut gleiche Resultat. Die erste Injektion wurde reaktionslos vertragen, bei der zweiten Injektion traten bei den meisten Tieren nach einer Inkubationszeit von 2—3 Stunden (Gewicht der Meerschweinchen 300—400 g) die oben geschilderten Erscheinungen auf (Temperaturabfall und starke Dyspnoë, Mattigkeit), die bei einer Anzahl von Tieren schon jetzt zum Tode führten, während die Mehrzahl der Tiere sich erholte und erst der dritten Injektion erlag. Die injizierte Menge von Samenflüssigkeit betrug 2—3 ccm; es machte in den klinischen Erscheinungen und im Ausgang keinen Unterschied, ob die Injektionen in 8-tägigen oder längeren Intervallen vorgenommen wurden.

Es trat ferner absolut kein Unterschied in der Wirkung hervor, ob das Spermoendotoxin subkutan oder peritoneal zugeführt wurde, und die totbringende Wirkung trat z. B. auch dann ein, wenn die Injektionen an verschiedenen Stellen gemacht wurden, wenn z. B. die beiden ersten Injektionen peritoneal, die dritte subkutan erfolgten.

Differenzen der Körperzellen-Endotoxine gegenüber den Bakterien-Endotoxinen. Es ist hier also nach den vielen Ähnlichkeiten ein Unterschied gegenüber den bakteriellen Endotoxinen zu konstatieren, bei welchen der Injektionsort von außerordentlich großer Bedeutung ist. Während gegen peritoneale Injektion von Endotoxinen keine Immunität zu erzielen ist, vertragen die „immun“ Tiere subkutan die Zufuhr von ganz kolossalen endotoxinhaltigen Bakterienmengen, 6, 8, ja 10 ganze Agarkulturen von Cholera, Typhus etc., wie aus den Veröffentlichungen von Pfeiffer, Kolle, Wassermann u. a. hervorgeht.

Pfeiffers Theorie der Endotoxinwirkung und die neuen Endotoxinbeobachtungen. Pfeiffer vertritt bekanntlich den Standpunkt, daß die Bakterien einen gewaltigen Rezeptorenapparat besitzen und daß nur ein oder nur wenige Rezeptoren mit Immunkörpern und Komplement besetzt werden müssen, um die Bakteriolyse herbeizuführen.

Diese bei der Bakteriolyse in Freiheit gesetzten Bakterienrezeptoren stellen nach Pfeiffer das endotoxisch wirkende Prinzip dar. Pfeiffer glaubt nun, daß beim immunen Tiere auf dem langen Resorptionswege nach subkutaner, im Gegensatz zu peritonealer, Injektion die große Mehrzahl der Bakterienrezeptoren mit Immunkörpern besetzt wird und auf diese Weise die endotoxische Wirkung verhindert wird.

Pfeiffers Beweisführung stützt sich auf folgende von ihm veröffentlichte interessante Beobachtungen.

1) Die Injektion von virulenten Bakterien bewirkt größere Anhäufung von Immunkörpern im Blute, löst also einen höheren Grad von Immunität aus.

2) Die virulenten Bakterien binden größere Mengen von Immunkörpern des Immunserums. (Diese Feststellung wurde durch genaue Titration des verwendeten Immunserums vor und nach der Verankerung gemacht, eine quantitative Dosierung, wie sie in völliger analytischer Exaktheit die von Pfeiffer ausgearbeitete Versuchsanordnung ermöglicht, wenn aufs genaueste die erforderlichen Kautelen beobachtet werden.)

Die von Pfeiffer gezogenen Schlüsse sind außerordentlich scharf-

sinnig, doch möchte ich mir erlauben, darauf hinzuweisen, daß hier vielleicht noch einige ungeklärte Punkte vorliegen können.

Die Beziehung zwischen Konstitution des Toxins resp. Endotoxins und Antitoxin- resp. Immunkörperbildung sind so komplizierte und noch so wenig erforschte, daß ein höherer Grad von Immunität nicht allein die Folge von Zufuhr einer quantitativ größeren Menge von Rezeptoren sein muß, und gerade aus den Pfeifferschen Bindungsversuchsprotokollen geht hervor, daß die Unterschiede in dem Immunkörper-Bindungsvermögen zwischen virulenten und avirulenten Stämmen lange nicht ausreichen, um den Unterschied in der endotoxischen Wirkung zu erklären.

Es erscheint mir also noch nicht endgültig bewiesen, daß die endotoxische Wirkung an die Rezeptoren geknüpft ist, und in diesem Zusammenhange ist die Mitteilung wohl von einigem Interesse, daß die den bakteriellen Endotoxinen so nahe stehenden Körperzellen-Endotoxine sich in dieser Beziehung völlig anders verhalten, da die subkutane Zufuhr, bei der nach Pfeiffer die Absättigung der Rezeptoren möglich ist, genau dieselben schweren klinischen Erscheinungen hervorruft wie die peritoneale.

Im Gegensatz zu den durch die Toxine bedingten pathologisch-anatomischen Veränderungen sind die durch die Endotoxine bedingten noch relativ sehr wenig studiert worden.

Es sei bemerkt, daß speziell die Körperzellen-Endotoxine in der kurzen Zeit, welche ihre Einwirkung auf den Tierkörper dauert, recht intensive pathologisch-anatomische Veränderungen setzen, welche an anderer Stelle beschrieben werden sollen, da diesen doch nur ein spezielleres anatomisches Fachinteresse zukommt.

Der Wirkungsort der Endotoxine und Toxine. Wir haben im vorhergehenden versucht, uns über das Wesen der Endotoxine eine Vorstellung zu bilden; die Bedeutung der Endotoxine ist darum eine so große, weil es viel mehr Bakterien gibt, die Endotoxinträger sind, als Toxin erzeugende, und da sogar die Toxin produzierenden auch noch nebenbei Träger von Endotoxinsubstanzen sind. Es stehen den Diphtherie- und Tetanusbacillen sämtliche anderen hier gegenüber.

Nachdem die Endotoxine und ihre Giftwirkung bisher unser Interesse in Anspruch genommen hatte, wendet es sich jetzt der Frage zu, wo hat man sich den Angriffspunkt dieser so giftig wirkenden Substanzen zu denken? Ich glaube, daß die weiter zu erwähnenden Untersuchungen es erlauben, die Frage gleichzeitig sowohl für die Toxine wie die Endotoxine einheitlich zu lösen.

Eine klare Antwort findet man in der Literatur auf die aufgeworfene Frage nirgends; ja man kann sagen, daß man die Giftwirkung als das a priori Gegebene ansah und nach dem Organ, in welchem die Wirkung ausgelöst wurde, gar nicht fragte.

Am ehesten sucht noch die **Ehrlichsche Seitenkettentheorie** wie für viele Probleme, so auch für dieses eine Auskunft zu geben. Ausgehend von dem vielzitierten Vergleiche: „Eisen im Haus zieht den Blitz an und führt Schaden herbei, Eisen am Haus wirkt blitzableitend“, glaubt Ehrlich, daß die ins Serum abgestoßenen Zellrezeptoren Toxinbindend wirken und dadurch verhindern, daß das Toxin an Rezeptoren, die noch unabgestoßen an der Zelle sitzen, herantritt wo dann die Bindung des Toxins die toxische Wirkung auf die Zelle überträgt.

In welchen Organen nun die Bindung stattfindet, ist für die ver-

schiedenen Toxine und Endotoxine noch nicht näher untersucht, und ich möchte hier nur Metschnikoff erwähnen, der für alle hier sich abspielenden Vorkommnisse in den Leukocyten die einzige Ursache, die für alle die so komplizierten Erscheinungen die befriedigende Erklärung abgibt, gefunden zu haben glaubt.

Obwohl nun Ehrlich im großen und ganzen als ein Gegner der unumschränkten Geltung der Phagocytentheorie anzusehen ist, hat er doch zu dieser Lehre nie scharf Stellung genommen und hat seinerseits nur betont, daß bei der Bindung des Tetanustoxins die Leukocyten nicht beteiligt sein könnten, weil im Gegensatze zu den anderen Giften die Bindung dieses Toxins im Zentralnervensystem stattfindet.

Der von Wassermann geführte Beweis, daß das normale Gehirn tetanusgiftbindend wirkt, ist bekanntlich eine der stärksten Stützen der Ehrlichschen Seitenkettentheorie geworden, da hiermit der Nachweis erbracht war, daß sich Rezeptoren, entsprechend den Postulaten der Ehrlichschen Seitenkettentheorie, gerade in den empfindlichen Organen vorfinden und der oben angeführte Blitz-Eisenvergleich Ehrlichs kaum besser demonstriert werden konnte: Gehirn im Tierkörper giftanziehend und todbringend, ein Stück Gehirn, eventuell sogar des eigenen, mit dem Gift loco injectionis zusammengebracht, giftbindend und von dem noch funktionierenden Zentralnervensystem ableitend.

Diese Anschauung fand trotzdem mancherlei Anfeindung. Jedoch wurde durch den Metschnikoffschen Befund, daß weibliche und auch männliche kastrierte Tiere auf Injektion von Spermatozoen mit der Produktion von lytischen Substanzen antworten, ja auch in der Lage sind, gegen injiziertes Spermolysin Antispermatoysin zu bilden, nicht einmal eine Modifikation der Ehrlichschen Theorie¹⁾ notwendig, da ja in derselben keineswegs gesagt war, daß gerade die Spermatozoen im stande seien, Antikörper gegen eingeführte Spermatozoen und gegen Spermolysin zu bilden. Ja es mußte a priori als sehr unwahrscheinlich bezeichnet werden, daß an den Spermatozoen die Verankerung der eingeführten Spermatozoenrezeptoren und der gegen diese gebildeten Ambozeptoren stattfindet.

Zur Erklärung dieser Vorgänge ist nicht einmal eine große Vielheit von Rezeptoren und Ambozeptorentypen anzunehmen, die vikariierend funktionell für einander einzutreten vermögen. Sonst müßten die analogen Verankerungsbefunde, welche mit Tetanus-, Diphtherie- und Ricin-toxin zusammengebrachte Organe zeigen, ebenfalls durch die Annahme einer Vielheit von verschiedenen Toxinmolekülen in einem Toxin erklärt werden.

Es scheinen unsere Versuche sogar sehr dafür zu sprechen, daß die Antikörperbildung gerade in allen anderen Organen, nur nicht in dem Organ, in dem das Toxin resp. Gift zur Wirkung kommt, stattfindet. Es muß hier auf die späteren Ausführungen und auf eine weitere Arbeit, in der der Mechanismus der antitoxischen Immunität speziell behandelt wird, verwiesen werden.

Injizierte Stoffe, die im Organismus auf keine korrespondierenden Stoffe treffen können, wie z. B. alle Bakterien, wären ja unter der Voraussetzung, daß die Antikörperbildung nur an den korrespondierenden Stellen stattfindet, überhaupt nicht in der Lage, die Produktion von Anti-

1) Ehrlich, v. Dungern, Münch. med. Wochenschr. 1900. No. 28; Sachs, H., Bioch. Centralbl. Bd. I. No. 14. etc.

körpern auszulösen, während doch Pfeiffer und Marx und Wassermann in ihren vielzitierten Arbeiten für Choleravibrionen und Typhusbacillen nachgewiesen hatten, daß den Hauptbildungsort für die betreffenden Immunkörper die hämatopoëtischen Organe darstellen.

Nomenklatur. Der Gegenstand erfordert es, hier einen Augenblick auf die herrschende Nomenklatur einzugehen; ich bin mir wohl bewußt, daß die Aenderung selbst wenig guter Namen sein Mißliches hat; jedoch ist die jetzt übliche Nomenklatur geeignet, die Verhältnisse viel schwieriger erscheinen zu lassen, als sie in Wirklichkeit sind, und demjenigen, der auf diesem Gebiete nicht völlig zu Hause ist, das Eindringen und jede Orientierung unmöglich zu machen.

Man hat in die Bakteriologie die Begriffe Toxine und Endotoxine eingeführt, mit deren Vorhandensein wir zu rechnen haben. Die Stoffe, welche die Endotoxine durch Auflösung der Bakterien in Freiheit setzen (Ambozeptor oder Immunkörper oder Zwischenkörper + Komplement oder Addiment oder Cytase), nennt man Bakteriolyse oder bakterizide Substanzen.

Diese Nomenklatur ist durchaus rationell und muß auf die biologischen Erscheinungen ausgedehnt werden, welche nach Injektion tierischer Zellen beobachtet werden. Von maßgebendster Seite ist diese Absicht angedeutet worden, als Ehrlich die Stoffe, welche rote Blutkörperchen zur Auflösung bringen, als Hämolyse bezeichnete, und auch auf französischer Seite schlug man diesen Weg ein, als man die leukocytenlösenden Stoffe als Leukolyse resp. Leukocidine bezeichnete.

Es geht hieraus hervor, daß die einzig berechnete konsequente Nomenklatur die Stoffe, welche Körperzellen zur Auflösung bringen, als Cytolyse resp. cytozide Substanzen benennen mußte, während für die bei der Cytolyse freiwerdenden Giftstoffe sinngemäß der Name Cytotoxine resp. Cytendotoxine zur Verfügung stand.

Leider wurde dieser Weg, speziell von den französischen Autoren, nicht gewählt und sie bezeichnen die Lyse, also die Stoffe, welche die injizierten Zellen zur Auflösung bringen, als Cytotoxine, die Stoffe, die z. B. die injizierten Spermatozoen zur Auflösung bringen, als Spermatoxin resp. Spermotoxin statt Spermolysin! Es ist dies eine Verwechslung von aktiv und passiv; ein plötzliches Verlassen des Standpunkts, der vom injizierten lebenden Tierkörper ausgeht zu Gunsten des injizierten Materials. Für die bei der Auflösung freiwerdenden Stoffe stand eine Name infolgedessen überhaupt nicht zur Verfügung.

In konsequenter Durchführung der durchaus guten Ehrlichschen Nomenklatur bezeichnen wir, um bei dem obigen Beispiele zu bleiben, die Stoffe, die injizierte Spermatozoen zur Auflösung bringen, als Sperm- resp. Spermolysin, die Stoffe, die bei der Lyse in Freiheit gesetzt werden, als Sperma-Endotoxin (besser als Spermotoxin). Leider hat sich Sachs in seiner zusammenfassenden Arbeit aus dem Ehrlichschen Institute über die Cytolyse (Bioch. Centralbl. Bd. I. No. 15 u. folg.) der Metschnikoffschen Nomenklatur angeschlossen und benennt die Arbeit „Ueber Cytotoxine“. Dagegen ist in den Folia haematol. Bd. I. No. 2 von Pröschner und Pappenheim, p. 78 ein ähnlicher Vorschlag wie oben von mir gemacht und dadurch begründet worden, daß man mit Toxin nicht eine Reaktion des Körpers, sondern eine von außen in den Körper gelangende schädliche Substanz bezeichnen soll.

Es bedeutet unsere Nomenklatur also keine Aenderung, sondern

eigentlich nur die Eliminierung einer schädlichen und unberechtigten Neuerung, die sich unbemerkt in die Literatur hatte einschleichen können.

Kehren wir nach dieser Abschweifung in das Gebiet der Nomenklatur zu unserem Gegenstande zurück. Wir hatten gesehen, daß die Bildung der Spermolysine im kastrierten Tiere keine Veranlassung bot, die Ehrlichsche Seitenkettentheorie auch nur zu modifizieren, da der Metschnikoffsche Einwand auf Voraussetzungen basierte, welche der Ehrlichschen Seitenkettentheorie fremd waren.

Dönitz machte dann die interessante Einzelbeobachtung, daß beim Kaninchen auch noch andere Organe als das Gehirn im stande sind, Tetanustoxin zu binden, und Ehrlich nahm nach diesen Befunden nun an, daß beim Kaninchen außer dem Gehirn (= Zentralnervensystem) noch andere Organe Rezeptoren für das Tetanustoxin besitzen; er äußerte sich nun nicht näher darüber, ob er in diesem Spezialfalle seine Ansicht beibehielt, daß die an den Rezeptor verankerten Toxinmoleküle in diesen Organen ebenfalls ihre Giftwirkung ausübten (cf. wieder den Vergleich mit dem Eisen als Blitzanzieher oder Blitzableiter), ob also beim Kaninchen eine größere Zahl von Organen als giftempfindlich gegenüber dem Tetanustoxin anzusehen wäre oder ob trotz der Verankerung und Verbringung der toxophoren Gruppe in Zellnähe doch nur das Gehirn als das einzige empfindliche Organ anzusehen wäre.

Wie dem auch sei, jedenfalls wurde der **Tetanus** als die **einzige** toxische resp. endotoxische **Erkrankung** angesehen, deren **Angriffspunkt im Zentralnervensystem selbst** zu suchen ist, und gerade **diese Eigenschaft** sollte den Tetanus gegenüber den anderen Erkrankungen **charakterisieren**.

Durch anatomische Untersuchungen ließ sich diese Beteiligung des Zentralnervensystems bisher nicht nachweisen; unsere Methoden sind dazu noch viel zu grob und selbst beim Tetanus, bei dem consensu omnium das Zentralnervensystem am stärksten befallen ist, ist seine Erkrankung aus den anatomischen Läsionen nicht zu erschließen, da diese entweder nicht vorhanden oder nur von geringer Intensität sind und sich beim weiteren Fortschreiten der Erkrankung auffälligerweise sogar wieder zurückbilden. Die klinische Beobachtung und die funktionelle Untersuchung liefern hier viel bessere Anhaltspunkte, und so muß der Beweis auf einem mehr indirekten Wege geführt werden, den man seit Beginn der mikroskopischen Ära nur selten begangen hat.

Gibt es spezifische pathologisch-anatomische Toxinwirkungen?

Die Sektionsergebnisse bei toxisch und endotoxisch zu Grunde gegangenen Tieren liefern Ergebnisse, die man sich gewöhnt hat, cum grano salis als spezifische anzusehen (hämorrhagische Lymphdrüsen-schwellung beim Ricinotod, Schwellung und Rötung der Nebennieren beim Diphtherietod etc.), doch können sehr wohl auch beim ricin-vergifteten Tiere sich oft geschwollene Nebennieren finden und hämorrhagische, vergrößerte Lymphdrüsen wieder ein Befund sein, den man am Cholera-tier erhebt. Es sind diese Veränderungen eben nur als allgemeine Reaktionen auf den einwirkenden Reiz, nicht jedoch als spezifische aufzufassen. Sowie man über diese Fragen weiter nachdenkt, wird es einem klar, daß die zu beobachtenden Veränderungen doch relativ geringe sind, die für den eintretenden Tod eine genügende anatomische Grundlage nicht geben. Weder die eben erwähnten noch die oft daneben vorkommenden Veränderungen der Leber (Verfettungen,

trübe Schwellung) und der Nieren (Verfettungen, trübe Schwellung) genügen, um die Intensität der klinischen Krankheitserscheinungen und den schließlichen tödlichen Ausgang zu erklären.

Lokalwirkungen der Toxine. Noch weniger gelingt ein Erklärungsversuch, wenn man sich die unbestreitbar vorhandenen lokalen Wirkungen vor Augen führt, die für Toxine und Endotoxine im wesentlichen gleiche sind. Es handelt sich immer nur um quantitativ verschiedene Hyperämien, Oedeme, Infiltrationen mit eventuell sich anschließenden Nekrosen (Cholera- und Typhusendotoxin, Ricin gift, Diphtheriegift, Pollenendotoxin etc.), nur beim Tetanusgift sind diese Verhältnisse quantitativ sehr verschieden, indem die lokalen Reizerscheinungen vollständig zurücktreten; die Veränderungen an den anderen Organen, die jedoch beim Tetanus so oft gelegnet wurden, sind deutlich, wenn auch in geringerer Intensität als bei anderen Toxinen, vorhanden.

Das klinische Bild all der genannten Intoxikationen hat neben allen Verschiedenheiten doch viele gemeinsame Züge; diese sollen uns den Weg zeigen, auf dem sich der Nachweis erbringen läßt, daß alle diese so differenten Stoffe doch eine einheitliche Art der Wirkung besitzen.

Bleiben wir zunächst beim Tetanus, bei welcher Erkrankung ja nach der allgemein herrschenden Ansicht eine Erkrankung des Zentralnervensystems angenommen wird.

Aus diesem Grunde wurde beim tetanuskranken Menschen seit langem Lagewechsel, Erschütterungen, Geräusche etc. auf das sorgsamste vermieden, da man die Erfahrung gemacht hatte, daß derartige Eingriffe schädliche Folgen haben und oft den Exitus letalis beschleunigen. Beim tetanuskranken Tier sind die Erscheinungen dieselben, im Anschlusse an Berührungen, Erschütterungen etc. treten die intensivsten Krampfanfälle auf und häufig folgt sehr schnell auf derartige Eingriffe der Tod.

Gehirnempfindlichkeit aller mit Toxin und Endotoxin vergifteten Tiere. Dieser Zusammenhang ist nun beim Tetanus besonders ausgesprochen, aber wieder absolut nicht als spezifisch anzusehen. Am Cholera- und Typhustier kann man ebenfalls die Beobachtung machen, daß das ruhig und apathisch daliegende, sich kalt anfühlende Tier nach mehrmaligem Emporheben in tonisch-klonische Krämpfe verfällt und eventuell auch zum Exitus kommt, der erfahrungsgemäß erst nach Stunden eingetreten wäre, wenn man das Tier in völliger Ruhe gelassen hätte.

Ebenso ausgesprochen wie beim tetanuskranken Tier sind diese Erscheinungen am ricinvergifteten¹⁾. „Langes Inkubationsstadium, während dessen keine Erscheinungen, dann plötzlicher Tod. Das Tier fällt auf die Seite, vorher klonische Zuckungen, Laufbewegungen, Lähmung der Vasomotoren. Abschwächung der Cornealreflexe und der der Extremitäten. Darauf allgemeine schlaffe Lähmung, Dyspnoe, Opisthotonus, Exitus. Das Stadium ultimum der Ricinvergiftung zeigt Symptome von seiten der Medulla oblongata: Vasomotoren- und Respirationslähmung. Erst nach der Atmungslähmung sinkt infolge Vasomotorenlähmung der Blutdruck.“ Das Tier sitzt noch eben scheinbar völlig gesund da, um dann ganz plötzlich das typische Bild der Ricinvergiftung zu geben (Taumeln, Schwanken, ungeordnete Bewegungen, die allmählich athetoseähnlich werden). Dieser Wechsel der klinischen Szene tritt besonders häufig im Anschluß an eine leichte Erschütterung auf, wie sie das Fallen-

1) Schilderung der Ricinvergiftung durch Franz Müller: Beiträge zur Toxikologie des Ricins. (Arch. f. exp. Pathol. u. Pharm. Bd. XLII. 1899.)

lassen aus einer Höhe von ca. 10—20 cm bewirkt. Normale Meeresschweinchen vertragen ohne jede Schädigung eine derartige Manipulation 10—20mal hintereinander wiederholt. Ebenso häufig tritt beim ricinvergifteten Tier der Tod ganz plötzlich im Anschluß an eine derartige leichte Erschütterung ein.

Es erinnert der bei verschiedenen Vergiftungen geschilderte Symptomenkomplex entschieden an das klinische Bild der **Gehirnerschütterung**, nur daß wir bei den toxinvergifteten Tieren eine Schädigung der Nervenzellen durch die Gifte annehmen müssen, eine Art Präparierung, welche diese schon gegen so leichte Erschütterungen empfindlich macht, auf welche das Gehirn normaler Tiere absolut nicht reagiert.

Dieser eben beschriebene Hirnshok, die tonischen und klonischen Krämpfe bei Toxin- resp. Endotoxinvergifteten, sind Momente, welche den Kliniker auf das Zentralnervensystem als auslösende Ursache der Erscheinungen hinweisen müssen.

Es sprechen diese Beobachtungen für eine Mitbeteiligung des Zentralnervensystems bei allen möglichen Toxin- und Endotoxinvergiftungen. Weitere Beweismomente wären natürlich noch sehr erwünscht, um diese Annahme besser zu stützen.

Wir wissen, daß die **Wärmeregulierung** des Körpers eine Funktion des Zentralnervensystems ist und zwar des sogenannten Wärmezentrums, welches, in Verbindung mit dem ebenfalls nervösen Vasomotorenapparate, die außerordentlich feine Regulierung ermöglicht.

Fast alle Toxine und Endotoxine haben nun eine sehr bedeutende Einwirkung auf die Temperaturkurve, sie bewirken in der Mehrzahl Temperatursteigerung, Fieber, ja Hyperpyrexie, zum Teil, wie die Cholera- und Typhusendotoxine und ein Teil der Cytoendotoxine, in kleinen Dosen eine Temperatursteigerung, in großen nach einer kurz vorübergehenden Steigerung der Körpertemperatur einen Temperatursturz, der bis zu Temperaturen führt, wie sie sonst intra vitam bei Warmblütern nicht beobachtet werden (24—28°). Die einfachste Deutung dieser Vorgänge scheint mir gegeben, wenn man eine durch die resorbierten Giftstoffe erfolgende Reizung mit folgender Lähmung des Temperatur-Regulierungszentrums bei zu starkem Reiz annimmt.

Weitere Beweise für die Gehirnwirkung der Endotoxine und Toxine. Noch eine ganze Reihe von Erscheinungen weisen auf das Zentralorgan als auslösende Ursache hin, es ist dies die kolossal hochgradige Dyspnoë, die man in gleicher Weise beim ricinvergifteten Tier sieht, die dem Cholera- und Typhustier eigen ist und die in ganz besonders intensiver Weise bei den durch Cytoendotoxine vergifteten Tieren zur Beobachtung gelangt. Durch die anatomischen Befunde findet diese Dyspnoë so wenig eine Erklärung, daß man auf eine Reizung des Atemzentrums als Erklärungsannahme angewiesen ist¹⁾.

Diese Feststellungen über eine Beteiligung des Zentralnervensystems bei der Toxin- und Endotoxinvergiftung werden noch durch von uns erhobene pathologisch-anatomische Befunde gestützt. Bei allen durch Cytoendotoxine vergifteten Tieren beobachteten wir sehr starke Erweiterungen der Gefäßlumina speziell der Kapillaren in Lunge und Milz,

1) Von den Dyspnoëarten bei durch Toxine und Endotoxine vergifteten Tieren läßt nur die Tetanussympnoë eine andersartige Erklärung durch Zwerchfellsähmung zu. Die Form dieser Tetanussympnoë weicht auch von den oben beschriebenen ab.

wie sie nur durch eine Vasokonstriktorenlähmung resp. Dilatatorenerregung erklärt werden können.

Es geht wohl aus dem Mitgeteilten hervor, daß wir für Toxine und Endotoxine einen gemeinsamen Angriffspunkt annehmen dürfen, wobei wir von etwaigen Lokalwirkungen — als für den tödlichen Verlauf belanglos — absehen. Wir sind der Ansicht, daß als dieser Angriffspunkt das Zentralnervensystem zu gelten hat und daß der Tetanus, weit entfernt, eine Ausnahmestellung einzunehmen, gerade das Prototyp der Toxin- und Endotoxinwirkung darstellt. Die Neutralisationsfähigkeit des Gehirns für Tetanustoxin ist eine zufällige Eigenschaft, die viel dazu beigetragen hat, die vorliegenden Verhältnisse zu verschleiern. Erst durch Versuche mit anderen Giften, welche durch das Gehirn nicht neutralisiert werden, konnte experimentell eine Klärung der hier vorliegenden Verhältnisse erfolgen; wir kommen des weiteren noch auf diese Fragen zurück.

Es wird diese Anschauung, daß das Zentralnervensystem den Hauptangriffspunkt aller Toxine und Endotoxine darstellt, die sich scheinbar mit der geltenden Lehre in so scharfen Gegensatz stellt, vielleicht als neu und kühn angesehen werden und es wird uns daher noch obliegen, noch weitere direkte Beweismomente anzuführen, da die bisherige Beweisführung nur als indirekte angesehen werden kann. Eine derartige einheitliche Auffassung ist zwar bisher noch niemals vertreten worden, aber dennoch finden sich in der Literatur eine Reihe von Einzelbeobachtungen zerstreut, die in gleichem Sinne gedeutet werden müssen und ebenfalls eine Stütze für die vorgebrachten Anschauungen abgeben.

Literaturangaben. Ich führe die sich besonders in der französischen Literatur findenden Angaben kurz an:

Sur les résultats de l'inoculation intracranienne du bacille d'Eberth ou de sa toxine. Injiziert man Kaninchen oder Meerschweinchen $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{20}$ ccm einer Typhusbacillenkultur intracraniell, so bemerkt man außerordentlich stark klinische Störungen, die im weiteren Verlauf der Erkrankung bei Meerschweinchen in 24—36 Stunden, bei Kaninchen in 1—5 Tagen den Tod herbeiführen. Am geeignetsten sind zu diesem Zwecke Kulturen von 15—20 Tagen, welche größere Mengen „Toxin“ enthalten. Es sind die Filtrate fast ebenso wirksam, wie die Kulturen selbst. Junge, nur 16 Stunden alte Kulturen führen nach kurzem Krankheitsstadium zur völligen Wiederherstellung des Tieres. Bei den Meerschweinchen beginnen die Erscheinungen schon nach wenigen Minuten, die Temperatur steigt bis 40,5°. Das Meerschweinchen wird von Schauern geschüttelt, bleibt dann später in stuporösem Coma liegen, verbunden mit Hypothermie und vereinzelter Konvulsionen. Beim Kaninchen wird der stuporöse Zustand von Zuständen unterbrochen, welche an Delirium oder Halluzination denken lassen. Bisweilen zeigen sich auch Darmerscheinungen. Der Urin ist eiweißhaltig, Milz, Leber oft erweicht, Nieren und Nebennieren injiziert. Die Gehirnssubstanz war erweicht. Die Nervenzellen nehmen Färbung schlecht an. Kerne und Kernkörperchen kaum sichtbar, die Dendriten verwaschen oder verschwunden. Es entsteht Infiltration durch zahlreiche Leukocyten. (Vincent, Compt. rend. de la soc. de biol. T. LV. No. 29.)

Versuche von G. Lamb und W. K. Hunter ergaben an Affen und Ratten nach subkutaner resp. intravenöser Injektion von Kobragift in

der Dosis von 0,05—0,1 mg das Auftreten von Muskellähmung sowie degenerative Veränderungen am Nervensystem, wie man sie sonst bei Paralysen findet. Das Kobragift wirkt anscheinend auf das motorische Neuron und es stellen sich die degenerativen Veränderungen am Nervensystem erst 2—3 Stunden nach der Injektion ein, während sie bei Tieren, die dem Gift früher erliegen, nicht nachweisbar sind. (The Lancet. 1904. 2. Januar.)

Nach Dembinski (Notes sur l'accontumance des lapins aux doses mortelles de cadavres de bacilles tuberculeux. Compt. rend. de la soc. de biol. T. LV. No. 33) wirken Tuberkelbacillen, ins Gehirn injiziert, als heftiges Gift. In der Dosis von 1 cg töten die Bacillen unfehlbar in der Zeit von 5—24 Stunden, 2 mg genügen meist schon, um in 24 bis 48 Stunden zu töten¹⁾. Bei diesen Tieren fand sich bei der Sektion Kongestion der Meningen. „Immunisierte“ Tiere zeigten anfangs die gleichen klinischen Erscheinungen: Temperaturerhöhung um 2—3°, Konvulsionen, Paralysen und starke Abmagerung. Doch tritt dies Ueberleben nur bei der Dosis von 2 mg, die nur **meist** tödlich wirkt, ein. Diese Versuche weisen darauf hin, daß 1) das Gift cerebrale Erscheinungen auslöst und 2) die Giftzufuhr ins Gehirn die Wirkung des Giftes in kolossaler Weise steigert. Von besonderer Bedeutung sind die wichtigen, an Schlangen gemachten Beobachtungen.

Es ist eine bekannte Tatsache, daß die Schlangen etc. gegen ihr eigenes Gift unempfindlich sind. Bis 40 mg desselben, peritoneal injiziert, bleiben ohne Wirkung. 45—60 mg rufen eine Art Starre hervor mit Herabsetzung der Reizbarkeit. Die Tiere erholen sich jedoch wieder. Die Resistenz der Schlangen gegen Schlangengift ist 500—600mal so groß wie z. B. die des Meerschweinchens, und diese Tiere können praktisch als unempfindlich gegen Schlangengift angesehen werden (Phisalex, Recherches sur l'immunité naturelle des vipères et des couleuvres. Soc. de biol. 1903. No. 27).

Erst nach peritonealer Injektion von 100—120 mg Schlangengift geht auch eine Schlange rasch zu Grunde. Es zeigen sich (wie auch sonst bei der Schlangengiftwirkung) cerebrale Erscheinungen. Herabsetzung der Sensibilität, Muskelschwäche, die Atmung wird immer langsamer und das Tier stirbt in 20—36 Stunden an Atmungsstillstand.

Direkte Beweise für die Gehirnwirkung der Toxine und Endotoxine. Wir kommen jetzt zu den direkten Beweisen für die von uns vertretene Anschauung; wir bringen erst die Tatsachen, um später theoretische Erörterungen anzuschließen.

Bei intracranieller Injektion von Schlangengift bei Schlangen genügt schon die minimale Dosis von 2—4 mg, um die geschilderten charakteristischen Erscheinungen und meist auch den Tod hervorzurufen.

Kaninchen sind als relativ unempfindlich gegen Diphtherietoxin zu betrachten, Mäuse und Ratten zeigen ebenfalls einen hohen Grad von Immunität bei gewöhnlicher Einverleibung. Roux und Borrel (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1898) zeigten aber, daß bei cerebraler Injektion schon eine Dosis von 0,1 ccm Toxinlösung genügt, um totale Paralyse und nach einigen Tagen den Tod jener Tiere herbeizuführen.

Ebenfalls von Roux und Borrel und von Behring (Allg. Ther.

1) Die angeführten Versuche sind also nicht mit sicher tödlichen Dosen angestellt.

d. Infekt. 1899) stammt die Angabe, daß bei den von Natur gegen Tetanus immunen Hühnern die intracerebrale Injektion von nur 1 mg Toxin Tetanusercheinungen auslöst, wenn man die Hühner vorher durch Kälteeinwirkung geschädigt hat.

Fehlen von Immunität bei intracerebraler Injektion. Hierher gehört ferner, was aber nach dem bisherigen Stand unserer Kenntnisse schwer zu deuten ist, die Angabe, daß nicht nur gegen intracerebrale Injektion von Endotoxinen, sondern auch von Toxinen keine Immunität besteht: Auch das (aktiv oder passiv) immunisierte Tier geht nach **intracerebraler** Injektion des Giftes (z. B. Tetanustoxin) ebenso zu Grunde, wie das nicht vorbehandelte (Roux und Borrel, Marie, Metschnikoff, Knorr, Münch. med. Wochenschr. 1898). Es war bisher diese Tatsache völlig unverständlich und wurde bisher auch nur zur Stütze für die Metschnikoffsche Anschauung herangezogen, daß das Gehirn nicht, wie Ehrlich annimmt, der Sitz der Antikörperproduktion gegenüber dem Tetanustoxin sein könne.

In den Rahmen der von uns vertretenen Anschauung über den Angriffspunkt der Gifte im Gehirn fügt sich diese Tatsache als ganz selbstverständlich ein.

Eigene Befunde. Der Gang unserer Untersuchungen war, wie ja leicht erklärlich, ein derartiger, daß die Theorie nicht etwa nach den in der Literatur zerstreuten Einzelbeobachtungen aufgestellt wurde, sondern daß wir uns aus unseren Versuchsreihen die oben skizzierte Anschauung bildeten und dann in der Literatur Umschau hielten, ob nicht irgendwo schon jemand Befunde veröffentlicht hätte, welche nur durch unsere Theorie eine befriedigende Erklärung zu finden vermögen.

Durch die von uns angestellten Untersuchungen werden zunächst die bisher vorliegenden Versuchsergebnisse bestätigt.

Diese Untersuchungen sind zur Lösung anderer Fragen der Immunitätslehre zusammen mit Herrn Dr. Ludwig Laband angestellt worden, und werden wir die sich auf den Mechanismus der natürlichen und erworbenen Immunität bezüglichen Tatsachen an anderer Stelle gemeinsam veröffentlichen.

Es sei hier von den Untersuchungen nur erwähnt, daß im allgemeinen bei intracerebraler Injektion geringere Dosen von Gift zum Tode führen, als bei jeder anderen Applikationsweise. Bei Meerschweinchen war die Differenz beim Tetanustoxin ebenfalls vorhanden, doch war dieselbe nicht bedeutend; wir glauben, für diese Erscheinung später auch eine Erklärung geben zu können.

Versuche an natürlich immunen Tieren. Da wir schon aus der Literatur die Angabe erwähnt hatten, daß aktive Immunität nicht gegen relativ geringe Giftdosen bei intracerebraler Injektion zu schützen vermag, bietet es besonderes Interesse, das Verhalten von Tieren mit angeborener natürlicher Immunität in dieser Beziehung einer Untersuchung zu unterziehen.

Der natürlich gegen Tetanus hochimmune Frosch, bei dem nach Injektion von 1 mg Tetanustoxin (Titer: 0,000001 g tötet ein Meerschweinchen von 250 g Gewicht) eine Inkubationszeit von 4—5 Wochen besteht, erkrankte nach intracerebraler Einführung von 1 mg Tetanustoxin innerhalb 5—10 Minuten an typischstem Tetanus auch bei einer Zimmertemperatur von 10°, der Tetanus geht in einigen Stunden wieder vorüber, um

dann nach 4—5 Wochen, wie nach Injektion in den Lymphsack, wieder auszubrechen und zum Tode zu führen.

Die einzelnen natürlich immunen Tierspecies scheinen sich nicht ganz gleichartig zu verhalten.

Das hochimmune Huhn zeigt (ohne vorherige Abkühlung) gegen intracerebrale Zufuhr von Tetanustoxin eine bedeutende, wenn auch nicht absolute Immunität. Erst nach Schädigung durch Abkühlung scheint hier die Empfänglichkeit hervorzutreten trotz der hohen, die Bindung des Toxins befördernden Temperatur des Huhns von über 40°.

Aus diesen Versuchen und anderen in den beigegebenen Versuchsprotokollen geht, wie ich glaube, mit absoluter Sicherheit hervor: 1) daß die Wirkung der Toxine und Endotoxine im wesentlichen im Gehirn ihren Angriffspunkt hat und 2) daß zur Wirkung im Gehirn nur minimale Dosen von Toxin und Endotoxin erforderlich sind.

Was ist natürliche und erworbene Immunität? Bei der erworbenen und bei der natürlichen Immunität erfreut sich das Gehirn, wie wir gesehen haben, durchaus nicht einer besonderen Unempfindlichkeit.

Die erworbene und die natürliche Immunität besteht vielmehr darin, daß die Toxinmoleküle verhindert werden, ins Gehirn zu gelangen; es wird dies dadurch möglich, daß Seitenketten, die im Serum frei kreisen, das Toxin binden und so das Toxin verhindern, an das empfindliche Gehirn zu gelangen. Es hat sich aber bei unseren Versuchen gezeigt, daß praktisch die spärlichen im Serum des normalen unvorbehandelten Tieres enthaltenen Antikörper beim Kaninchen, Meerschweinchen, Maus und Huhn gegenüber Tetanustoxin überhaupt nicht in Betracht kommen, und daß es die verschiedenen Organe sind, welche das Gift an sich binden und es verhindern, daß es an den Ort seiner Wirkung, i. e. das Gehirn, gelangt.

Die natürliche Resistenz und Immunität ist im wesentlichen keine Serum-, sondern Organimmunität. Der Mechanismus der natürlichen Immunität ist, da nicht nur das Serum, sondern die Wirkung sämtlicher Organe in Betracht zu ziehen ist, ein sehr komplizierter und soll an anderer Stelle noch eingehende Würdigung finden. Jedoch steht so viel fest: Im wesentlichen geht die natürliche Widerstandsfähigkeit gegenüber Toxinen proportional der Fähigkeit der Organe, die Giftmoleküle an sich zu ketten und an der Einwirkung auf das Gehirn zu verhindern. Zwischen den scheinbar so diametral entgegengesetzten Phänomenen der angeborenen Unempfindlichkeit und der hochgradigsten Empfänglichkeit einzelner Tierspecies bestehen somit nur quantitative, keine qualitativen Differenzen, diese beruhen allein in der verschiedenen Fähigkeit der Organe der einzelnen Tierspecies, Toxine zu binden und eventuell zu neutralisieren.

Der Ort der Wirkung ist das Gehirn; gelangt das Gift ins Gehirn (direkt oder indirekt), so erkranken auch sogenannte natürlich immune Tiere. Es ist dies eine Erscheinung, die bisher völlig unverständlich geblieben war. Gelingt es umgekehrt den Organen (oder den Antikörpern des Serums), das Gift vom Gehirn durch vorherige Bindung fernzuhalten, so tritt auch beim empfindlichen Tier keine Erkrankung ein.

Stimmen die aus dieser Immunitätstheorie sich ergebenden Konsequenzen mit den beobachteten Verhält-

nissen überein? Wenn wirklich die Organe als Filterbarriere dem Gehirn vorgelagert sind und minimale Mengen des eingeführten Toxins genügen, im Gehirn die betreffenden Krankheitserscheinungen auszulösen, so wird man erwarten müssen, daß man im Gehirn von mit Toxin injizierten Tieren keine oder nur minimale Toxinmengen nachweisen können.

Toxinmengen im Gehirn infizierter Tiere. Für diesen experimentellen Nachweis liegen beim Tetanustoxin die Verhältnisse ungünstig, da die bekannte Bindungs- und Neutralisierungsfähigkeit des Gehirns für Tetanustoxin große Mengen vorhandenen Toxins, das ja nur durch seine Wirkung im Tierversuche erkennbar ist, dem Nachweis entzieht. Günstiger liegen die experimentellen Verhältnisse bei anderen Giften. — Für Ricin und Diphtherietoxin besitzt das Gehirn, wie wir festgestellt haben, keine Bindungs- und Neutralisierungsfähigkeit. Es gelingt nun nicht, im Gehirn von mit vielfachen Multiplis der tödlichen Toxindosis injizierten Kaninchen Ricin oder Diphtherietoxin nachzuweisen, woraus zu folgern ist, daß größere Giftmengen im Gehirn nicht vorhanden sind.

Die Dosen, die nach Passage der Organfilter noch ins Gehirn gelangen und die Erscheinungen auslösen, sind eben, wie die oben zitierten Versuche ergeben, so klein, daß bei Prüfung des Gehirns auf Toxingehalt durch subkutane Injektion wieder in den Organfiltern des Versuchstieres so viel Toxin zurückgehalten wird, daß infolgedessen ins Gehirn nicht mehr die zur Wirkung erforderliche Minimaldosis gelangt.

Das Bestreben der Organe, das Gift zu binden und dadurch zu hindern, ins Gehirn zu gelangen, wird bei erlangter aktiver oder passiver Immunität noch sehr wesentlich unterstützt resp. ergänzt durch die im Serum kreisenden, abgestoßenen oder künstlich eingeführten Seitenketten der Organe (Antitoxine). Nur hierin ist der Unterschied zwischen immunem und empfindlichem Tier zu suchen. Das Gehirn selbst wird durch Erwerbung der Immunität in seiner Reizbarkeit nicht verändert, sondern nur die den Zutritt des Toxins zum Gehirn sperrenden Barrieren werden verstärkt. So erklärt es sich, daß aktiv oder passiv immunisierte Tiere erfahrungsgemäß gegenüber cerebraler Injektion der Giftstoffe keine größere Resistenz besitzen, als nicht aktiv oder passiv vorbehandelte. Es sind zwischen den immunen und empfindlichen Tieren nur geringe quantitative Differenzen dadurch denkbar, daß das im Gehirn kreisende, mit Antitoxin beladene Blut eventuell einen kleinen Teil des intracerebral injizierten Toxins sofort neutralisieren könnte. Passiert das Toxin jedoch die sperrende Barriere oder wird es im Experiment direkt an die Nervenzellen gebracht, so ist, wie auch die angestellten Untersuchungen ergeben haben, die Wirkung beim immunen wie beim empfindlichen Tiere die gleiche.

Da unter den tatsächlichen Verhältnissen intracerebrale Gifteinjektionen nicht vorkommen, ist der durch aktive oder passive Immunität gesetzte Schutz praktisch ein vollkommen ausreichender. Wenn so eine direkte praktische Bedeutung diesen intracerebralen Toxininjektionen nicht zukommt, so zeigen uns doch diese experimentellen Versuchsvariationen der natürlichen Infektion, daß zwischen angeborener natürlicher Immunität, zwischen Empfindlichkeit, zwischen aktiver und passiver Immunität keine prinzipiellen Unterschiede bestehen. Alle diese scheinbar so differenten Schutzeinrichtungen des Tierkörpers beruhen im Prinzip und in der Funktion darin, mit dem Gifte auf seinem Wege zum Gehirn im Serum und in den Organen Bindungen einzugehen und durch

Blockierung des Giftes zu verhindern, daß dieses im Gehirn seine zum Tode führende Wirkung ausübt.

Je mehr diese Bindung bei aktiver und passiver Immunität sich schon im Serum abspielt, um so weniger wird den Organen zu tun übrig gelassen, deren bindende Funktion bei den sogenannten empfänglichen Tieren eine nur geringe und nicht zuverlässige ist¹⁾. Je stärker diese Bindungsfähigkeit der Organe ist, um so höher ist die natürliche Immunität, um so gesicherter ist das Tier vor der Intoxikation, um so weniger braucht es zum Ueberstehen derselben aktiv erzeugte oder passiv zugeführte Antikörper.

III. Ueber die für die therapeutische Anwendung der bakteriziden Sera geltenden Grundsätze.

Wer den bisherigen theoretischen Ausführungen gefolgt ist, kann sich die für die Serumtherapie anzuwendenden Grundsätze aus ihnen ableiten; er kennt die Grenzen, die ihren Leistungen unübersteiglich gesetzt sind. Im Gegensatz hierzu glaubte man bisher theoretisch allgemein an die Möglichkeit von großen, gewaltigen, therapeutischen Erfolgen. Als dann praktisch Mißerfolg sich auf Mißerfolg häufte, suchte man die Schuld nicht in Fehlern der geltenden Theorie, sondern in technischen Schwierigkeiten, und zahllose Forscher stellten all ihr Können und alle ihre Zeit in den Dienst der erfolgverheißenden serumtherapeutischen Sache.

Ganz ohne Erfolg ist diese fieberhafte Arbeit nicht geblieben, doch ist derselbe ein völlig anderer als der erwartete. — Man fand keine Heilsera, wohl aber wurden unsere Kenntnisse der verborgensten Tiefen der Biologie in früher nie geahnter Weise erweitert. Die medizinischen Therapeuten waren in Wirklichkeit Pioniere der Naturwissenschaft.

Gegenwärtiger Stand der Serumtherapie. Will man den Standpunkt präzisieren, den gegenwärtig die besonnenen Kliniker gegenüber den serumtherapeutischen Versuchen einnehmen, so muß man sagen, daß, abgesehen vom Diphtherieserum und mit Einschränkung auch noch vom Tetanusheilserum, zur Zeit kein Serum existiert, das sich einer größeren Anhängerzahl erfreute, als sie jedes der zeitweise von der Mode hochgepriesenen chemischen Mittel nicht auch gewinnt.

Es handelt sich hier nicht etwa um eine Verständnislosigkeit des nur selten über eine bakteriologische Durchbildung verfügenden Klinikers für moderne, auf dem Boden der jungen Bakteriologie erwachsene Bestrebungen; es hat der Siegeszug des Diphtherieheilserums in die alten Anschauungen so stark Bresche gelegt, daß alle neuen Serumheilversuche eher mit zu großem Enthusiasmus als mit zu großer Skepsis begrüßt wurden.

Man erwartete auch in klinischen Kreisen alles Heil für die leidende Menschheit von den Heilseris, und, wie auch sonst so oft, was man zu sehen wünschte, sah man nur zu leicht. Die vis medicatrix naturae trägt noch in ihrer unberechenbaren Art dazu bei, die Wirkungen der

1) Dieser Umstand erklärt es, warum beim hochempfindlichen Tier (z. B. Meerschweinchen gegenüber Tetanustoxin) die Dosen für letale Subkutan- oder Cerebral-injektion des Toxins nicht sehr weit auseinander liegen. Die Organe des hochempfindlichen Tieres, wie z. B. des Meerschweinchens, haben eine so minimale Bindungskraft, daß fast die Gesamtmenge des subkutan zugeführten Toxins cerebrälwärts gelangt.

Suggestion und Autosuggestion zu erhöhen. Kritische Menschen sind überhaupt spärlich gesät und besitzen nicht die hinreißende Wirkung des Fanatikers, der für seine Sache steht oder fällt. Der größte Teil der Kritik wurde schon durch die Tatsache lahmgelegt, daß den Kritikern die erforderliche genügende Kenntnis der Immunitätslehre abgehen sollte, um auf diesem Gebiete einen Kampf durchfechten zu können. Wer es ohne diese Basis versuchte, nur auf klinische Erfahrungen gestützt, den Kampf zu eröffnen, mußte sich den Vorwurf gefallen lassen, mit Mißgunst den Errungenschaften einer jungen Disziplin gegenüberzustehen.

Antitoxische Sera. Und doch wären die im Recht gewesen, die bakteriziden Heilseris Heilerfolge absprechen oder wenigstens ihnen Heilerfolge nur unter sehr bedeutsamen prinzipiellen Einschränkungen zuerkennen. Wir sprechen hier ausdrücklich nicht von der Serumtherapie mit antitoxisch wirkenden Heilseris. Hier liegen die Verhältnisse relativ sehr einfach. Das Antitoxin bindet und neutralisiert das Toxin, soweit es noch frei in der Blutbahn vorhanden ist, resp. soweit es noch neu von den Bakterien gebildet wird.

Aber auch hier liegen schon nach Ablauf der Inkubationszeit die Verhältnisse nicht so einfach: Das schon an Organe gebundene Toxin kann nicht ohne weiteres mehr neutralisiert werden und können sich aus dieser Tatsache therapeutische Mißerfolge herleiten; speziell ist beim Tetanus nach Ablauf der Inkubationszeit wohl meist schon der Termin verpaßt, wo das Serum lebensrettend wirken kann. Aber jedenfalls steht so viel fest: Nach Einverleibung des Antitoxins vermehrt sich die Menge des zur Wirkung gelangenden Toxins nicht weiter, da wenigstens das neugebildete Toxin neutralisiert wird. Nach allen vorliegenden Untersuchungen ist anzunehmen, daß sogar ein Teil des schon vorhandenen und ein Teil des an die Organe verankerten Toxins noch neutralisiert werden kann. Wenn so infolge der oben erwähnten Verhältnisse das Antitoxin auch nicht immer den Tod verhindern kann, ist seine Wirkung doch stets eine günstige und rechtfertigt diese Heilungsmöglichkeit resp. die Vergrößerung der schon natürlich bestehenden Heilungsmöglichkeit eine Anwendung des antitoxischen Serums; dazu kommt noch, daß seine Anwendung eine sicher unschädliche ist (N.B. wenn durch Anwendung hochwertiger Sera vermieden wird, daß wiederholt große Mengen giftig wirkenden körperfremden Eiweißes zur Injektion gelangen).

Bakterizide Sera (passive Immunisierungen). Ganz anders liegen die Verhältnisse bei der therapeutischen Anwendung bakterizider Sera. Es handelt sich hier der Natur der Sache nach bei therapeutischen Versuchen nur um passive Immunisierungen. Auf die aktiven (prophylaktischen) wollen wir noch später zu sprechen kommen.

Bei der passiven Immunisierung werden nun nur Stoffe zugeführt, welche als Zwischenkörper oder Ambozeptoren in Verbindung mit dem im normalen Tierkörper vorhandenen Komplement eine Auflösung der eventuell vorhandenen Bakterien herbeizuführen vermögen.

Bei dieser Bakteriolyse werden nun Endotoxine in Freiheit gesetzt. Gegen Endotoxine Antitoxine zu bilden, ist der Tierkörper nach unseren früheren Ausführungen nicht im stande, und daher enthält weder das injizierte Immunserum, noch auch das Serum des infizierten Tieres irgend welche antiendotoxischen Stoffe, durch die die Wirkung der Endotoxine neutralisiert werden könnte.

Die freiwerdende Endotoxinmenge entscheidet das.

Schicksal des bakteriell infizierten Tieres. So bildet die Endotoxinmenge den wichtigsten Faktor, der das Schicksal des infizierten Tieres bedingt. Da die Endotoxine an die Leibessubstanz der Bakterien gebunden sind, so bildet — *ceteris paribus* (Endotoxingehalt etc.) — bei der Annahme einer unter der Wirkung von Immunserum erfolgenden schnellen Bakteriolyse — die Zahl der im Augenblick der Injektion vorhandenen Bakterien das wichtigste Moment.

Indikationen für bakterizide Sera. Die sinngemäße Anwendung dieses Satzes gibt die Indikationen, denen die Anwendung bakterizider Sera zu folgen hat.

Liefert die Gesamtmenge der vorhandenen Bakterien bei ihrer Auflösung noch nicht die Dosis letalis minima an Endotoxinen, so wird die Wirkung des bakteriolytischen Immunserums eine günstige sein. Wird doch durch seine Wirkung die weitere Vermehrung der Bakterien und gleichzeitig das Anwachsen von Bacillenleibersubstanz verhindert.

Ist die Zahl der Bakterien jedoch schon so groß, daß bei ihrer Auflösung die Dosis letalis an Endotoxinen und eventuell auch Multipla davon in Freiheit gesetzt werden, so wird durch die Einwirkung des bakteriolytischen Serums der Tod nur beschleunigt. Die Endotoxine der in größerer Menge und schneller gelösten Bakterien gelangen rascher zur Resorption und können ihre zum Tode führende Wirkung schneller ausüben, als dies im gewöhnlichen Ablauf der Infektion mit der langsameren Bakteriolyse und der dadurch bedingten Verlangsamung der Infreisetzung der Endotoxine geschehen wäre.

Bei allen (bakteriziden) serumtherapeutischen Bestrebungen werden wir, wenn wir eine Schädigung des Patienten vermeiden wollen, uns einen Ueberblick über die Menge der in den vorhandenen Bakterien enthaltenen Endotoxine und über ihre voraussichtliche Wirkung verschaffen müssen. Man kann nur schon von vornherein sagen, daß nach Ablauf der Inkubationszeit bei schwereren Fällen nur selten diejenigen Verhältnisse realisiert sein werden, die einen therapeutischen Erfolg bei der Anwendung von bakterizidem Heilserum gewährleisten. In leichteren Fällen liegen die Bedingungen natürlich günstiger und hier wird es möglich sein, durch die unter Einwirkung des bakteriolytischen Serums beschleunigte Bakteriolyse eine Abkürzung der Krankheitsdauer und sogar einen eventuellen letalen Ausgang zu verhindern, der ja nie als ausgeschlossen zu betrachten ist, solange Bakterien im Körper kreisen, von denen man nicht weiß, an welchem Punkte ihre Vermehrungsintensität Halt machen wird.

Es ist für den naturwissenschaftlich-medizinischen Standpunkt schwer, sich mit dem Gedanken vertraut zu machen, daß es auch bei der Anwendung der Serumtherapie einen prinzipiellen Unterschied bedeutet, ob die Zahl der Bakterien im gegebenen Falle eine große oder geringe ist, da man vermeint, man könne diesen quantitativen Unterschied durch Vermehrung der Serumzufuhr ausgleichen.

Dem ist aber gerade nicht so, und dadurch erklärt es sich, daß man mit bakterizidem Heilserum in den schweren Fällen nicht nur nicht hilft, sondern sogar eventuell den Tod schneller herbeiführt. Obwohl zugegeben werden muß, daß in diesen Fällen der Tod wohl — wenn auch später — auch meist ohne Serumzufuhr eingetreten wäre, so darf

eine derartige Beschleunigung des Todes doch nicht als eine wünschenswerte Folge therapeutischen Eingreifens betrachtet werden.

Die **Chancen der bakteriziden Serumtherapie** würden sich ganz bedeutend verbessern, wenn es gelänge, unsere diagnostischen Methoden so zu verfeinern, daß die Infektionskrankheiten schon im Inkubationsstadium erkannt werden könnten. Unter diesen Verhältnissen wären dann alle Bedingungen für eine erfolgreiche bakterizide Serumtherapie gegeben. Die Endotoxine der noch nicht sehr zahlreichen Bakterien würden die Dosis letalis minima wohl noch niemals erreichen.

In gewissem Sinne — wenn auch in viel weniger vollkommener Weise — ist bei der prophylaktischen Immunisierung dieses Ziel als erreicht zu betrachten. Die betreffenden Individuen werden aktiv immunisiert und erhalten durch die infolge dieser Vorbehandlung in ihrem Serum auftretenden bakteriolytischen Stoffe die Eigenschaft, etwa in ihren Körper gelangende Infektionserreger der betreffenden Art durch Bakteriolyse unschädlich zu machen, bevor ihre weitere Vermehrung irgend welchen Schaden anrichten kann.

Die durch prophylaktische aktive Immunisierung erzielten Resultate sind auch im großen und ganzen als günstige zu bezeichnen.

Daß die aktive prophylaktische Immunisierung ebenfalls keinen absoluten Schutz verleiht, ist in der Tatsache begründet, daß die Immunkörper nicht zu dialysieren vermögen. So können sich eventuell Cholera- und Typhusbacillen im Darne ungestört vermehren, und gegen die bei der später eintretenden Bakteriolyse freiwerdenden Endotoxine der vom Darne aus innerdierenden Bakterien sind, wie schon oft hervorgehoben, die Immunkörper machtlos.

Für prophylaktische Immunisierungen wird mit Recht die aktive der passiven darum vorgezogen, weil bei der letzteren die artfremden Immunkörper zu schnell wieder aus dem Blutserum verschwinden.

Nachdruck verboten.

Erwiderung auf eine Bemerkung von Arrhenius und Madsen in ihrer Abhandlung: „Toxines et Antitoxines“.

[Diese Zeitschr. Bd. XXXVII. p. 9. Anm.]

Von Prof. v. **Dungern** in Freiburg i. B.

In meiner Abhandlung: „Beitrag zur Kenntnis der Bindungsverhältnisse bei der Vereinigung von Diphtheriegift und Antiserum“ (Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 8/9) habe ich Tatsachen angeführt, welche mit der Anschauung von Arrhenius und Madsen über die Beziehung von Toxin und Antitoxin nicht zu vereinigen sind. Es ist nicht meine Absicht, meine Ausführungen an dieser Stelle zu wiederholen, zumal H. Sachs vor kurzem über die beobachteten Erscheinungen in dieser Zeitschrift berichtet hat (Bd. XXXVII. p. 251—261). Ich möchte nur kurz auf einige Bemerkungen eingehen, die Arrhenius und Madsen in Bezug auf meine Untersuchungen in einer Anmerkung ihrer Abhandlung „Toxines et Antitoxines“ (l. c.) gemacht haben.

Die Autoren sind der Ansicht, die Tragweite meiner Ergebnisse

sei schwer zu beurteilen und zwar deshalb, weil die Größe der Versuchsfehler nicht angegeben ist, und weil das Gift nicht nach der Methode der partiellen Absättigung untersucht wurde. Beide Momente sind meines Erachtens für die Beurteilung der Versuchsergebnisse vollkommen belanglos.

Das Gift ist in Bezug auf die für die Ausführung der Untersuchung notwendigen Prüfungskonstanten in der eingehendsten Weise untersucht worden, vor allem auch durch Prof. Morgenroth, auf dessen ausführliche Arbeit ich nur zu verweisen habe (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLVIII. p. 177). Die partielle Absättigung des Giftes kann für das Resultat meiner Untersuchung von gar keiner Bedeutung sein, da die bei zweizeitigem Giftzusatz nachweisbare Erhöhung der Giftigkeit der Gemische in jedem Falle, mag das Ergebnis der partiellen Absättigung sein wie es will, mit den Grundlagen der nach Arrhenius und Madsen anzunehmenden Absättigungsart in Widerspruch steht.

Die Fehlerquellen waren die einer jeden L+-Bestimmung. Sie wurden, wie aus meinen Protokollen hervorgeht, soweit wie möglich vermieden. Es handelt sich dabei neben den in meiner Arbeit erwähnten sonstigen Kautelen hauptsächlich darum, möglichst gleichmäßig reagierende Meerschweinchen zu verwenden. Man erkennt dies leicht daraus, daß keine unregelmäßigen Reihen auftreten. Da das Tiermaterial bei meinen Versuchen ein günstiges war, so konnten die L+-Dosen in den meisten Fällen sogar bis auf $\frac{1}{100}$ ccm genau bestimmt werden. Die L+-Dose dieses Giftes bei einmaligem Vermischen mit der Immunitätseinheit wurde außerdem noch aus prüfungstechnischen Gründen 20mal von Professor Marx kontrolliert. Sie hielt sich vom 20. Dezbr. 1901 bis zum 15. Mai 1903 fast ganz konstant, indem sie von 0,77–0,78 ccm, also nur um $\frac{1}{100}$ ccm schwankte; kein einziges Tier hat mit 0,76 ccm weniger als 5 Tage gelebt, alle Meerschweinchen mit 0,78 ccm sind 3 oder 4 Tage nach der Injektion gestorben bis auf zwei, die $\frac{1}{2}$ Tag länger lebten.

Die Fehlergröße ist also bei dieser Methode, wenn sie richtig angewandt wird, eine verhältnismäßig sehr geringe und kann, wenn Arrhenius und Madsen sich so sehr dafür interessieren, nach meinen Protokollen ganz gut beurteilt werden. Ich selbst lege, wie ich schon in meiner Abhandlung betont habe, keinen so großen Wert auf die absolute Richtigkeit der Zahlen. Ob die L+-Dose durch die Fraktionierung des Giftes von 0,78 auf 0,59 oder nur auf 0,6 ccm herabgesetzt wird, ist für die Tragweite der ganzen Untersuchung doch nicht von ausschlaggebender Bedeutung. Die Fraktionierungsmethode führt zu so starken Ausschlägen, daß sich gegen die unbedingte Zuverlässigkeit derselben gewiß nichts einwenden läßt.

Wenn Arrhenius und Madsen trotzdem schreiben: Ici nous nous bornerons à indiquer le danger de la méthode suivie par lui, puisqu'il faudra alors supposer une substance nouvelle pour chaque nouveau phénomène (Epitoxonoide), so ist dies ein durchaus subjektiver Standpunkt. Es ist doch nicht berechtigt, eine Methode, die eine wissenschaftliche Streitfrage entscheiden soll, deshalb für gefährlich anzusehen, weil ihr Ergebnis mit der Anschauung der einen Seite nicht übereinstimmt. Eine weitere Substanz zur Erklärung der beobachteten Erscheinungen annehmen zu müssen, ist für den Biologen nichts Ungewöhnliches. In diesem Falle war ich dazu um so mehr berechtigt, als die neue Substanz (Epitoxonoid) schon von Ehrlich auf Grund seiner Beobachtungen beim Ablagern des Diphtheriegiftes vermutet wurde (Kon-

stitution des Diphtheriegiftes. Deutsche med. Wochenschr. 1898), und auch die quantitative Untersuchung der Aviditätsverhältnisse auf eine selbständige Substanz hinweist. Die Annahme des Epitoxonoids ist aber überhaupt für die Tragweite der eigenartigen Bindungserscheinung nur von sekundärer Bedeutung. Mag man sich die Konstitution des Diphtheriegiftes denken wie man will, das Ergebnis der Fraktionierungsmethode zeigt mit zwingender Notwendigkeit, daß von einer Absättigung des Diphtheriegiftes durch das Antitoxin nach dem einfachen Schema Ammoniak-Borsäure keine Rede sein kann.

Welche Gesichtspunkte Arrhenius und Madsen im Auge haben, wenn sie schreiben, die von mir mitgeteilten Tatsachen ließen sich auch in ihrem Sinne deuten, ist mir unbekannt. Es wäre besser gewesen, die Autoren hätten, statt an meinen Untersuchungen Ausstellungen zu machen, die jeder tatsächlichen Unterlage entbehren, auch nur einen Hinweis gegeben, wie sie das beobachtete Phänomen mit ihrer Anschauung in Einklang bringen wollen. Sollten sie an die Deutung denken, der Arrhenius in seinem Vortrage in Bonn (Zeitschr. f. Elektrochemie. Bd. X. p. 661) und Madsen in seinem Vortrage in London (Brit. med. Journ. 1904. 10. Sept.) Ausdruck gegeben haben, so verweise ich auf meine Ausführungen in der Zeitschrift für Elektrochemie (1904. No. 40) und auf die Abhandlung von Sachs (l. c.). Das vorliegende Tatsachenmaterial ist, wie wir gezeigt haben, völlig ausreichend, um diesen Erklärungsversuch auszuschließen.

Nachdruck verboten.

Beitrag zum Studium der Wirkung einiger Organextrakte bei den akuten Infektionsprozessen.

[Aus dem Institute für Pathologische Anatomie der Kgl. Universität zu Bologna, Direktor Herr Prof. G. Martinotti.]

Von Dr. **Bindo De Vecchi**, Assistenten und Privatdozenten.

(Schluß.)

Während des Infektionsverlaufes konnte ich keine charakteristischen Erscheinungen beobachten; der Zeittermin des Todes der Versuchstiere stimmte fast mit jenem der Kontrolltiere überein und die geringen Unterschiede müssen außer acht gelassen werden, das Gewicht nahm beständig von der Inokulation des Keimes bis zum Tode ab. Die in den Leichen der Tiere wahrgenommenen Schädigungen waren diejenigen, welche gewöhnlich bei den akuten Infektionskrankheiten auftreten, die Leber war sehr oft mit gelben Herden durchsetzt. Aus dem Blut konnte ich immer den Keim in Reinkultur gewinnen.

Bei der histologischen Untersuchung zeigte die Leber der mit schwachen Dosen von Bouillonkultur subkutan injizierten Tiere die charakteristischen, von verschiedenen Forschern beschriebenen Läsionen, die vornehmlich in erheblicher venöser Stauung, in sehr deutlichen Erscheinungen von körnig-fettiger Entartung und in kleinen Herden einzelliger Infiltration bestanden. Solche Befunde waren auch bei den vorher mit Leberextrakt behandelten Tieren wahrnehmbar, in der Leber dieser Tiere war aber eine sehr interessante Struktureigentümlichkeit

sichtbar. Der Kern einiger Leberparenchymelemente trat mehr verdickt als normalerweise auf, das Chromatinnetz war sehr verdichtet, mit Chromatinanhäufungen bei den Knotenpunkten des Netzwerkes (Pseudonukleolen); diese Anschwellung und Hyperchromatosis des Kernes war bei den oben erwähnten, von den Entartungserscheinungen betroffenen Zellen nicht wahrnehmbar. Bei den Zellelementen, die so deutliche Kernveränderungen aufwiesen, konnte ich durch geeignete Methoden (Heidenhain) auch eine Zunahme der Protoplasmagranula feststellen. Nur bei wenigen Kernen konnte ich Erscheinungen direkter oder indirekter Teilung beobachten; viele Leberzellen besaßen aber 2 Kerne. Diese Struktureigentümlichkeit war noch deutlicher bei der Leber der mit Kaninchenleberextrakt behandelten Mäuse. Es sei sofort bemerkt, daß diese Veränderung bei den Kontrolltieren deutlich — und vielleicht in einem größeren Umfange — bemerkbar war, welche den Leberextrakt bloß unter die Haut oder intraperitoneal erhalten hatten.

Gleicher oder ähnlicher Befund wurde in der Leber von den Forschern festgestellt, die dazu kamen, irgend einen Reiz auf das Leberparenchym (Bakterientoxine, Nukleoproteide) zu bringen. Dies deutet mit Wahrscheinlichkeit auf Erregungserscheinungen hin, die nach schwachen Reizen im Zelleib stattfinden. Ich muß aber gestehen, daß ich einen ähnlichen, obwohl an Intensität geringeren Befund auch in der Leber von mit Leber- und besonders mit Nebennierenextrakt inokulierten Tieren beobachten konnte, was bedeutet, daß der oben erwähnte Befund nicht vollkommen für den Leberextrakt spezifisch ist, sondern daß auch andere in den tierischen Organismus eingeführte Organsäfte fähig sind, einen schwachen Reiz auf das Drüsenelement der Leber auszuüben.

Die übrigen Organe boten außer jenen für den Infektionsprozeß des *Bac. icteroides* charakteristischen keine besonderen Veränderungen,

Nebennieren.

I. Gruppe: Kaninchennebennierenextrakt subkutan und dann mit Bouillonkultur von *Bac. icteroides* injiziert.

Tag		Tag		Tag	
XXX.		XXXI.		XXXII.	
17. XI.	2 ccm s.k. Neb.extr.	17. XI.	2 ccm s.k. Neb.extr.	17. XI.	2 ccm s.k. Neb.extr.
19. XI.	1 " " "	19. XI.	1 " " "	19. XI.	1 " " "
21. XI.	1 " " "	21. XI.	1 " " "	21. XI.	1 " " "
23. XI.	1 " " "	23. XI.	1 " " "	23. XI.	1 " " "
	¹ / ₂ " " Bac. ict.		¹ / ₂ " " Bac. ict.	25. XI.	1 " " "
25. XI.	1 " " Neb.extr.	25. XI.	1 " " Neb.extr.	27. XI.	1 " " "
27. XI.	1 " " "	27. XI.	1 " " "	29. XI.	1 " " "
28. XI.	tot	28. XI.	tot	1. XII.	1 " " "
				4. XII.	1 " " "
					1 " " Bac. ict.
				8. XII.	tot
XXXIII. Kr.		XXXIV. Kr.		XXXV. Kr.	
17. XI.	2 ccm s.k. Neb.extr.	23. XI.	¹ / ₂ ccm s.k. Bac. ict.	4. XII.	1 ccm s.k. Bac. ict.
19. XI.	1 " " "	29. XI.	tot	9. XII.	tot
21. XI.	1 " " "				
erhält weiter ähnliche Injektionen jeden zweiten Tag; Harnanalyse, negat. Zucker- und Eiweißproben. — Wird am 8. XII. getötet. Organe normal.					

II. Gruppe: Kaninchen, mit Kaninchennebennierenextrakt intraperitoneal, und dann mit Bouillonkultur von *Bac. icteroides* unter die Haut inokuliert.

Tag		Tag		Tag	
XXXVI.		XXXVII.		XXXVIII.	
13. XII.	1 ccm i.p. Neb.extr.	13. XII.	1 ccm i.p. Neb.extr.	13. XII.	1 ccm i.p. Neb.extr.
15. XII.	1 " " "	15. XII.	1 " " "	15. XII.	1 " " "
17. XII.	1 " " " +	17. XII.	1 " " " +	17. XII.	1 " " "
19. XII.	1 " " "	19. XII.	1 " " "	19. XII.	1 " " " +
21. XII.	1 " " "	21. XII.	1 " " "	21. XII.	1 " " " +
	$\frac{1}{2}$ " s.k. Bac. ict.		$\frac{1}{2}$ " s.k. Bac. ict.		$\frac{1}{2}$ " s.k. Bac. ict.
23. XII.	1 " " Neb.extr.	23. XII.	1 " " Neb.extr.	23. XII.	1 " " Neb.extr.
25. XII.	tot +	24. XII.	tot +	24. XII.	tot +

III. Gruppe: Kaninchen, mit Hundenebennierenextrakt unter die Haut oder intraperitoneal, und dann mit Bouillonkultur des *Bac. ict.* subkutan injiziert.

Tag		Tag		Tag	
XXXIX.		XL.		XLI. Kr.	
2. I.	1 ccm s.k. Neb.extr.	2. I.	1 ccm i.p. Neb.extr.	21. I.	1 ccm s.k. Neb.extr.
4. I.	1 " " "	4. I.	1 " " "	26. I.	1 " " "
6. I.	1 " " " +	6. I.	1 " " " +	28. I.	1 " " "
8. I.	1 " " "	8. I.	1 " " "	30. I.	1 " " " +
10. I.	1 " " " +	10. I.	1 " " " +	1. II.	1 " " "
12. I.	1 " " " +	12. I.	1 " " " +	3. II.	1 " " "
13. I.	1 " " "	13. I.	1 " " "	4. II.	tot + (Lebercocci-
	$\frac{1}{4}$ " " Bac. ict.		$\frac{1}{4}$ " " Bac. ict.		diosis)
18. I.	tot +	16. I.	tot +		
XLII. Kr.		XLIII. Kr.			
24. I.	1 ccm i.p. Neb.extr.	13. I.	$\frac{1}{4}$ ccm s.k. Bac. ict.		
26. I.	1 " " "	17. I.	tot		
28. I.	1 " " "				
30. I.	1 " " "				
1. II.	1 " " "				
3. II.	1 " " "				
5. II.	1 " " " +				
7. II.	Die Injektionen aufgehoben. Das Tier wird am 21. II. getötet. Schwache Vergiftungserscheinungen. Gewicht abgenommen. Harnanalyse immer negativ.				

IV. Gruppe: Mäuse mit Kaninchennebennierenextrakt unter die Haut, und dann mit Bouillonkultur von *Bac. icteroides* injiziert.

Tag		Tag		Tag	
A. (3 Mäuse α , β , γ)		B. (2 Mäuse α , β) Kr.		C. (2 Mäuse α , β) Kr.	
27. XI.	$\frac{1}{4}$ ccm s.k. Neb.extr.	27. XI.	$\frac{1}{4}$ ccm s.k. Neb.extr.	4. XII.	$\frac{1}{4}$ ccm s.k. Bac. ict.
1. XII.	$\frac{1}{4}$ " " "	1. XII.	$\frac{1}{4}$ " " "	9. XII.	tot
4. XII.	$\frac{1}{4}$ " " "	4. XII.	$\frac{1}{4}$ " " (α stirbt)		
	$\frac{1}{4}$ " " " Bac. ict.	9. XII.	$\frac{1}{4}$ " s.k. Neb.extr.		
9. XII.	tot α , β , γ	11. XII.	$\frac{1}{4}$ " " "		
		14. XII.	$\frac{1}{4}$ " " (β lebt weiter, wird getötet)		

bloß fand sich in der Milz der Mäuse, vorher mit Lebersaft behandelt, eine schwache Zunahme der Riesenzellen, die in einer erheblicheren Weise bei den vorhergehenden Versuchen mit Milzsaft schon bemerkt wurde.

Es giebt keinen Unterschied bei der Anordnung und Zahl der

Keime in den Organen der mit Leberextrakt behandelten Tiere und jenen der bloß mit *Bac. icteroides* inokulierten Tiere.

* * *

Auch bei dieser Versuchsreihe nahm das Gewicht der Versuchstiere vom Inokulationstage bis zum Todestage allmählich ab; bei den bloß mit Nebennierenextrakt inokulierten Tieren trat der Tod erst sehr spät, von allgemeinen Vergiftungserscheinungen begleitet, auf; diese Erscheinungen wurden bei den Versuchstieren von den der *Bac. icteroides*-Infektion eigentümlichen Erscheinungen verdeckt. Bei der Obduktion fand ich die bei diesem Infektionsprozeß schon beobachteten makroskopischen Schädigungen und aus dem Herzblut konnte ich immer auch hier den Keim in Reinkultur isolieren.

Die histologischen, an den verschiedenen Organen der Versuchstiere beobachteten Läsionen unterscheiden sich nicht von den an den Organen der Kontrolltiere wahrgenommenen. In der Tat sind die deutlichsten Veränderungen jene vom Infektionsprozesse verursachten, der die Tiere zum Tode brachte, und welche daher bei den bloß mit *Bac. icteroides* injizierten Tieren in gleichem Maße konstatiert werden. Die Milz zeigt die Zeichen eines, oft einer Zentralnekrose der Follikel zugesellten akuten Tumors. Die Leber ist stark hyperämisch, die Leberzellen zeigen Erscheinungen von körnig-fettigen Degenerationen, von den oben beschriebenen Zeichen von Kern- und Protoplasmaerregung begleitet; zahlreiche kleinzellige Infiltrationen sind in dem ganzen Leberparenchym verbreitet; die Niere ist der Sitz einer, allerdings nicht sehr schweren, parenchymatösen Nephritis von desquamativem Typus; die Thymus ist ebenfalls hyperämisch und weist eine leichte Hyperplasie ihrer Elemente auf. Bei den Nebennieren fand ich auch eine starke Stauung des ganzen Organs und bei einigen Tieren wahre Hämorrhagien an der Grenze zwischen der Rinden- und Marksubstanz. Die Bacillen waren wie gewöhnlich in den verschiedenen Organen verteilt, und ihre Zahl zeigte ebenfalls keine Veränderung.

Bei den mit Nebennierenextrakten unter die Haut oder intraperitoneal inokulierten Tieren konnte ich — weder bei den Nebennieren selbst, noch bei anderen Organen — keine bemerkenswerte Erscheinung feststellen. Bloß bei dem Pankreas konnte ich beobachten, daß die die Langerhansschen Inseln zusammensetzenden Zellen dicker als gewöhnlich waren, aneinander gehäuft, mit vesikulärem und chromatinreichem Kerne. Dieser Befund, scheint mir, könnte den Mechanismus jener von Blum¹⁾ und anderen Forschern²⁾ hervorgehobenen Erscheinung, des Auftretens von Zucker im Harn der mit Adrenalin, namentlich intraperitoneal, behandelten Tiere beleuchten. Allerdings konnte ich diese Nebennierenglykosurie niemals feststellen, trotz der zahlreichen ausgeführten Untersuchungen und der verschiedenen angewendeten Methoden

1) Blum, Nebennierendiabetes. (Arch. f. die ges. Physiol. Bd. XC. 1902. p. 617.)

2) Herter und Wakemann, Ueber Adrenalinglykosurie und verwandte, durch die Wirkung reduzierender Substanzen und anderer Gifte auf die Pankreaszellen hervorgerufene Glykosurien. (Virchows Arch. Bd. CLXIX. p. 479.)

Dieselben, On adrenalin glycosuria and certain relations between the adrenals glands and carbohydrate metabolism. (American Journ. of medic. Sciences. T. CXXV. 1903. p. 46.)

Vosburg and Richard, On the sugar content and extravascular coagulation of the blood after administration of adrenaline. (American Journ. of Physiol. Vol. IX. 1903. p. 35.)

(Trommers, Fehlings, Nylanders Phenylhydrazin- und Fermentationsproben).

Die Läsionen der Langerhansschen Inseln könnten darauf hindeuten, daß infolge solcher Extraktinjektionen ein pathologischer Zustand des Pankreas zu stande kommt, so daß das Auftreten des Zuckers im Harn stattfinden könnte. Durch die Untersuchungen von Herter und Wakemann ist bekannt geworden, daß die Inokulation von schwachen Dosen von Adrenalin keine Glykosurie und keine Läsionen des Pankreas hervorruft, nur die tödlichen Gaben verursachen nekrotische Schädigungen dieses Organs und die Schädigungen betreffen hauptsächlich die Langerhansschen Inseln. Bei den von mir ausgeführten Versuchen stellen die beobachteten Veränderungen vielleicht ein Anfangsstadium des Prozesses dar; durch seine weitere Entwicklung hätte derselbe später zur Glykosurie führen können. Oder — immer nach den von Herter und Wakemann ausgesprochenen Meinungen — der Zucker könnte meinen Untersuchungen entgangen sein, da die Adrenalinglykosurie, gleichwohl sie eine erhebliche Zuckerausscheidung hervorruft, eine vorübergehende Erscheinung wäre, von der Dauer einiger Stunden. Ohne diese Behauptung in Zweifel zu setzen, lassen mich doch die von mir in verschiedenen Zeitintervallen nach der Inokulation ausgeführten Untersuchungen eher glauben, daß die allzu schwache Dosis des inokulierten Extraktes nicht vermochte, die Glykosurie hervorzurufen, obwohl sie schwache Veränderungen des Pankreas verursachte.

* * *

Wenn die durch die von mir angestellten Versuche gewonnenen Ergebnisse betrachtet werden, so können aus diesen einige Bemerkungen, die nicht ohne Interesse sind — wie mir scheint — gezogen werden.

Zunächst wird die Dauer der vom *Bac. icteroides* hervorgerufenen Infektionserkrankung durch die vorangehende oder gleichzeitige Behandlung mit Organextrakt (wenigstens für die von mir versuchten Organe) keineswegs beeinflußt. Die Organextrakte können ohne Unterschied beim negativen Erfolg subkutan oder intraperitoneal eingeführt werden und von einem Tiere derselben oder verschiedener Art herrühren, als dem unter die Haut mit Bouillonkultur des *Bac. icteroides* inokulierten. Die Zeitunterschiede, die man in der Dauer des Erkrankungsprozesses zwischen den Kontroll- und den Versuchstieren beobachten kann, sind allzu gering und vor allem zu unbeständig, um den Organextrakten irgend eine Wirkung zuschreiben zu können. Man könnte einwenden, daß der *Bac. icteroides* eine allzu rasche pathogene Wirkung besitzt, so daß die Tiere ausnahmslos nach 4—5 Tagen zu Grunde gehen, wenn auch die unter die Haut injizierte Virusmenge sehr klein (wenige Tropfen) war; ich muß aber sagen, daß es eben meine Absicht war, den Einfluß einiger Organsäfte bei den akuten Infektionsprozessen zu untersuchen, und festzustellen, ob sie dieselben Eigenschaften *in vivo* entfalten, die sie *in vitro* zeigen. Ferner war meine Absicht, experimentell zu sehen, ob die experimentellen klinischen Behauptungen, welche den Organsäften therapeutische Eigenschaften bei überaus akuten Erkrankungen, wie Milzbrand und Rotz, zuschrieben, irgend einen Wert besäßen.

Der Verlauf des Erkrankungsprozesses entwickelte sich bei den Versuchstieren in ähnlicher Weise, wie bei den Kontrolltieren. Das Gewicht nahm beständig bis zum Tode ab; das Tier zeigte sich unlustig,

bei den Bewegungen torpid, mit gesträubten Haaren, mit geringer Freßlust und starkem Durst; der Harn wies nie veränderte chemische Zusammensetzung auf, die Temperaturmessung wurde aus den oben erwähnten Gründen unterbrochen.

Der bakteriologische Befund des Blutes war ebenfalls bei den verschiedenen Tieren identisch, bei den mit *Bac. icteroides* unter die Haut injizierten, mit Organsäften behandelten oder nicht behandelten konnte ich aus dem Herzblut den injizierten Keim, bei den Kaninchen immer in Reinkultur, bei den Mäusen manchmal anderen Keimen zugesellt, isolieren. Der *Bac. icteroides* entwickelte sich sehr rasch auf schrägem Agar und war leicht zu erkennen durch die charakteristische Form seiner Kolonien. Die Virulenz des Keimes blieb unverändert bei seinem Durchgang durch die mit Organsäften inokulierten Tiere; verschiedene Male verwertete ich den aus dem Blut der so behandelten Tiere gezüchteten *Bac. icteroides* zur Impfung neuer Tiere und erhielt den Tod in der üblichen Zeit mit den anatomischen Veränderungen, die bei der experimentellen *Bac. icteroides*-Infektion zu beobachten sind.

Der bakterioskopische Befund änderte sich niemals bei den verschiedenen Tieren, die Keime zeigten keinen Unterschied zwischen den Versuchs- und den Kontrolltieren hinsichtlich der Zahl und der Verteilung.

Der von den verschiedenen Organen der mit Virus und Organsäften inokulierten Tiere gebotene histologische Befund war jener, der bei der experimentellen *Bac. icteroides*-Infektion wahrzunehmen ist, die Läsionen gaben das von Sanarelli und anderen Verfassern beschriebene Bild wieder, welches ich hier nicht wiederholen will. Jedoch konnte ich einige speziellere histologische Besonderheiten bei den mit Organextrakten gleichzeitig inokulierten Tieren beobachten, Besonderheiten, die bei den bloß mit Bouillonkultur des Keimes inokulierten nicht wahrnehmbar und bei den bloß mit Extrakten behandelten — wenigstens teilweise — zu beobachten waren.

So fand ich in der Milz der Versuchskaninchen die fixen Bindegewebszellen des Malpighischen Follikels sehr angeschwollen oder nekrotisiert und bei den ebenso behandelten Mäusen eine beträchtliche Zunahme der Riesenzellen (Transformation myeloide — Dominici¹). Ohne diesem letzteren Befund einen übertriebenen Wert beizumessen — da wir wissen, daß die Zahl der Riesenzellen in der Milz der Maus zwischen weiten Grenzen schwanken kann (Martinotti und Barbacci²) — deutet die Tatsache, daß sie in größerer Zahl bei den mit Organsäften behandelten Tiere vorhanden waren, als bei den bloß mit *Bac. icteroides* inokulierten, wo sie sehr spärlich waren, darauf hin, daß die Extrakte eine allgemeine Wirkung besitzen, die sich auf gewisse Organe äußert. Diese Wirkung ist aber nicht spezifisch für das Milzextrakt, da wir diese Zunahme der Riesenzellen auch in der Milz der mit Leber- und Nebennierensaft behandelten Mäuse finden.

Die Struktureigentümlichkeit, die ich bei den mit Leberextrakt behandelten Tieren feststellen konnte, war eine beträchtliche Verdickung des Kernes und Vergrößerung seines Chromatinnetzes, mit einer Zunahme

1) Dominici, Contribution à l'étude de l'anatomie pathologique de la rate. (Congrès internat. de Médecine. 2 août. 1900. Presse médicale 1900. 10 Octobre.)

2) Martinotti e Barbacci, La tumefazione acuta della milza nelle malattie infettive. (Il Morgagni. Anno XXXII. 1890. p. 5.)

der Protoplasmakörnchen, Erscheinungen, die von anderen Forschern beobachtet wurden, welche in den tierischen Organismus Lebernukleoproteide einführten (Guerrini). Nach meinen Beobachtungen wäre aber dieser Befund nicht vollkommen spezifisch, da sich eine ähnliche, gleichwohl sehr viel weniger deutliche Kernveränderung in der Leber der mit Milz- oder Nebennierenextrakten inokulierten Tiere vorfindet. Diese Verdickung der Kerne und Zunahme der Körnchen deutet ebenfalls mit aller Wahrscheinlichkeit auf die Folgen der allgemeinen Wirkung hin, welche der Saft auf den ganzen Organismus und auf das Leberparenchym entfaltet. Diese besondere Wirkung würde als schwacher Reiz dienen und die beobachteten cellulären Erscheinungen wären die erste Antwort auf diesen Reiz (Erscheinungen von Zellerregung). Wenn dieser Reiz von größerer Intensität und Dauer wäre, dann könnte derselbe auch zu einer aktiven Vermehrung der Leberzellen, schließlich zu nekrotischen Erscheinungen derselben führen, welche Erscheinungen bei den von mir ausgeführten Versuchen kaum angedeutet waren.

Dagegen konnte ich bei den mit Nebennierenextrakt inokulierten Tieren keine histologischen Erscheinungen von Wichtigkeit feststellen, weder in den Nebennieren, noch in anderen Organen, mit Ausnahme des Pankreas. Ich habe oben diese letzteren Veränderungen (Anschwellung der die Langerhansschen Inseln zusammensetzenden Zellen) und die Abwesenheit der von Blum beschriebenen Glykosurieform bei den so behandelten Tieren erwähnt, ich habe auch auseinandergesetzt, wie man das Fehlen dieser Erscheinung erklären könnte.

* * *

Die von mir hervorgehobenen Eigentümlichkeiten deuten darauf hin, daß die Organextrakte als Reizmittel auf gewisse Gewebe und Parenchyme wirken und ihre Wirkung wahrscheinlich von den sogenannten Nukleoproteiden herrührt, die in den Kreislauf des Organismus gelangen. Dieser Reiz vermag aber — wenigstens bei Anwendung von Leber-, Milz- und Nebennierenextrakt bei der *Bac. icteroides*-Infektion — das Widerstandsvermögen des Organismus gegen die Infektionen in merklicher Weise nicht zu erhöhen.

August 1904.

Nachdruck verboten.

A propos de la propriété agglutinative de certains sérums normaux pour le bacille d'Eberth.

Par **M. A. Rodet,**

Professeur de microbiologie à l'Université de Montpellier.

Dans son mémoire „Ueber Niederschlagsbildung bei der Agglutination“ (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. p. 156 et 251) L^öwit note incidemment que l'agglutination par les sérums normaux peut parfois se distinguer par certains caractères de l'agglutination par les sérums spécifiques. C'est ainsi que le bacille typhique, agglutiné par le sérum de lapin neuf, peut être désagglutiné par un chauffage à 55 à 60° pendant 2 à 5 minutes; le résultat est le même avec le *B. coli* et le vibrion cholérique. D'ailleurs le phénomène est spécial au sérum de

lapin, ou du moins L. ne l'a pas observé avec le sérum de cobaye. L. explique cette désagglutination par la chaleur modérée, en supposant que la chaleur a pour effet dans ce cas de détruire la combinaison de l'agglutinine avec la substance bacillaire, de séparer l'agglutinine des bacilles; d'où il conclut que, dans l'agglutination par les sérums normaux, par certains sérums du moins, l'union entre la substance bacillaire et l'agglutinine est moins intime, moins solide qu'elle ne l'est dans le cas des agglutinines spécifiques.

Dans une étude sur la propriété agglutinative du sérum de lapin neuf (Compt. rend. de la soc. de biol. 1903. p. 1628), j'ai signalé un fait qui montre que le phénomène observé par Löwit peut recevoir une autre interprétation. J'ai constaté en effet que le sérum normal de lapin, chauffé aux températures employées par cet auteur, perd son pouvoir agglutinatif. Trois sérums de lapins neufs ayant été chauffés pendant 1 heure, l'un à 58°, les deux autres à 55°, ne donnèrent plus d'agglutination du bacille d'Eberth ou ne la donnèrent qu'à l'état de traces; il va sans dire que ces sérums avaient été éprouvés, après le chauffage, comparativement avec les mêmes sérums non soumis à l'action de la chaleur. Il en résulte que la substance, qui donne au sérum de lapin neuf la faculté d'agglutiner le bacille d'Eberth (agglutinine normale, si l'on veut), est très sensible à des températures qui sont tout à fait sans influence sur la propriété agglutinative acquise par l'immunisation, comme chacun le sait, et comme je l'ai vérifié une fois de plus en mettant à l'épreuve comparativement, dans mes expériences de chauffage, des sérums agglutinants d'animaux immunisés.

Dans l'expérience de Löwit, il ne s'agit donc pas seulement d'une simple séparation de l'agglutinine et de la substance bacillaire, il doit y avoir destruction ou altération de l'agglutinine engagée dans la combinaison. Si l'interprétation de L. était exacte, le sérum préalablement chauffé à 55—58°, resterait tout aussi apte que le sérum non chauffé à déterminer l'agglutination à une température favorable, ce qui n'est pas; et l'agglutination, défaite par le chauffage, se restaurerait par le retour à une température plus basse, ce qui ne doit pas être. La différence entre l'agglutination par ce sérum normal et l'agglutination par un sérum spécifique ne consiste donc pas en une moindre solidité de la combinaison, plus facilement défaite par le chauffage, mais en une particularité des propriétés de la substance même qui donne au sérum normal son pouvoir agglutinatif, et qui, contrairement à l'agglutinine développée par l'immunisation, est très sensible à la chaleur modérée. A l'égard de la chaleur, cette agglutinine normale se comporte à peu près comme les alexines.

Je m'étais demandé si, dans les sérums normaux, l'agglutinine pré-existe vraiment, si elle ne se forme pas in vitro, dans l'opération même que l'on fait pour la manifester, comme conséquence du mélange des bacilles avec le sérum, résultant d'une réaction entre certains éléments élaborés par les bacilles et certaine substance normale du sérum, peut-être l'alexine. L'effet du chauffage, à une température qui précisément détruit l'alexine, sembla tout d'abord donner raison à cette hypothèse; mais elle fut infirmée par d'autres observations, et elle est surtout infirmée par le fait de Löwit. Ce fait prouve, en effet, que, une fois l'agglutination réalisée par le sérum de lapin, la substance agglutinante fixée sur les bacilles présente la même sensibilité à la chaleur que la substance normale préexistante; l'est par suite très probable que c'est la

même substance qui préexiste et qui est engagée dans l'agglutination une fois faite. Il n'y a donc pas de raison de supposer que l'agglutinine se constitue de toutes pièces in vitro dans l'action du sérum normal sur le bacille d'Eberth; le phénomène est bien dû à un principe agglutinant normal, mais celui-ci diffère des agglutinines spécifiques par sa sensibilité à la chaleur, qui le rapproche de l'alexine. Il y a vraiment là, semble-t-il, un rapprochement, un lien, un trait d'union, qui mériterait d'être approfondi, entre les alexines et les agglutinines.

Dans l'hypothèse de la formation de l'agglutinine in vitro, par le contact du sérum normal et des bacilles, on aurait peut-être pu saisir, à un moment donné de la réaction, un temps déterminé après le mélange de culture et de sérum, un accroissement du pouvoir agglutinatif de ce dernier. C'est le contraire qui s'observe. Non seulement à aucun moment, à partir de 2 minutes après le mélange, on ne constate d'accroissement; mais au contraire le pouvoir agglutinatif diminue presque immédiatement et disparaît rapidement. Dans mes expériences, du sérum normal de lapin, additionné de bacilles typhiques (8 gouttes de culture en bouillon pour 32 gouttes de sérum), a été épuisé complètement en agglutinine après 10 minutes, déjà très appauvri après 2 minutes. L'absorption de l'agglutinine du sérum de lapin neuf par le bacille d'Eberth se fait donc avec une très grande rapidité.

J'ai fait sur la propriété agglutinative du sérum normal d'autres observations qui ont été consignées dans ma note à la société de biologie, et que je me borne à rappeler:

La propriété agglutinative du sérum de lapin neuf s'accompagne d'une propriété précipitante pour les cultures filtrées de bacille d'Eberth. C'est le phénomène de Kraus avec un sérum normal.

Le sérum, épuisé en substance précipitante par son action sur les cultures filtrées, est épuisé même temps en agglutinine. Très probablement donc, dans ce cas tout au moins, c'est la même substance du sérum qui détermine l'agglutination des bacilles et la précipitation des cultures filtrées, argument en faveur de cette idée, que c'est le même principe élaboré par les bacilles, qui, d'une part, diffusé dans le milieu de culture, forme le précipité de Kraus, et, d'autre part, présent à la surface des bacilles, est cause de leur agglutination.

Nachdruck verboten.

Besitzen die löslichen Eiweisskörper der Milch spezifische bakterizide Eigenschaften?

[Aus dem Laboratorium des städt. Kaiser und Kaiserin Friedrich-Kinderkrankenhauses zu Berlin. (Direktor: a. o. Prof. Dr. A. Baginsky.)]

Von Paul Sommerfeld.

Mit 1 Figur.

Die Frage, ob der rohen Milch spezifische bakterizide Eigenschaften zukommen, ist wiederholt erörtert worden (Freudenreich, Park, Stocking, Fokker, Moro u. a.), zuletzt von Klimmer¹⁾ in diesem

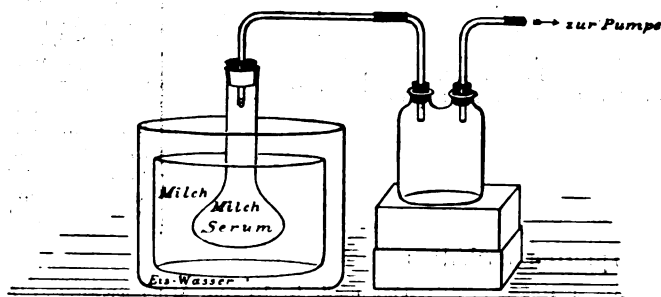
1) Die Arbeit von Kolle aus dem Kochschen Institut kam erst nach Drucklegung dieser Mitteilung zu meiner Kenntnis.

Centralblatt (Bd. XXXI. No. 8) und im Archiv für Kinderheilkunde (Bd. XXXVI). Dort findet sich die gesamte einschlägige Literatur zusammengestellt, so daß ich mir ein Eingehen auf dieselbe versagen darf. Die hier mitzuteilenden Untersuchungen beschäftigen sich noch einmal mit diesem Gegenstand, jedoch in einer von den bisherigen Arbeiten abweichenden Versuchsanordnung. Es wurde nicht die Milch selbst auf etwaige bakterizide Eigenschaften geprüft, sondern die löslichen Eiweißkörper der Milch, welche man jüngst als die Träger solcher Eigenschaften angesprochen hat (v. Behring, Therapie der Gegenwart. 1904. No. 1).

Man erhält bekanntlich die löslichen Eiweißkörper — das Laktalbumin und das Laktoglobulin — zusammen mit dem Wasser, dem Milchzucker und Salzen (eventuell mit Spuren von Fett), wenn man nach dem Vorgange von Lehmann die Milch durch Tonzellen filtriert. Durch diese Filtration werden die einzelnen Bestandteile, also auch die gelösten Eiweißkörper, in keiner Weise geschädigt oder chemisch beeinflusst, so daß man sie im Filtrat gewissermaßen im „nativen“ Zustande vor sich hat. Ein weiterer Vorteil ist der, daß das Filtrat völlig keimfrei ist, für die exakte Durchführung der geplanten Versuche von außerordentlicher Wichtigkeit.

Der Gang der Untersuchung gestaltete sich, wie folgt:

Die Milch wurde unmittelbar nach dem Eintreffen im Laboratorium, das war etwa 30—45 Minuten nach dem Ermelken, mittels steriler



Pukal-Tonfilter¹⁾ von etwa 150—200 cm Inhalt filtriert. Das Filter tauchte in ein tiefes, die Milch enthaltendes Gefäß, welches seinerseits wieder in Eiswasser stand. Das Tonfilter, in bekannter Weise mit der Wasserstrahlpumpe verbunden, war mit einem Gummirückschlagventil und einer Flasche versehen, um bei Aenderung des Wasserdruckes, bezw. beim Versagen des Ventils zu verhindern, daß Leitungswasser in das Filter hineinströmen könnte. Endlich war ein Manometer angeschlossen. Während des Versuches wurde die Milch zugedeckt. Sämtliche Teile des Apparates wurden unmittelbar vor dem Beginne eines jeden Versuches 2 Stunden im Dampfe bei 105° sterilisiert.

Die Filtration erfolgte bei einem Druck von durchschnittlich 15 mm, man brauchte gewöhnlich 5—6 Stunden, um etwa 50 cm Filtrat zu erhalten. Dieses war völlig klar, wasserhell, gab beim Erwärmen eine Fällung und zeigte überhaupt alle Eiweißreaktionen.

1) Zur Reinigung nach dem Versuche wurden die Tonfilter mit Wasser ausgespült, dann in Sodalösung gekocht, einige Stunden in fließendem Wasser ausgespült, getrocknet und über einem starken Dreibrenner ausgeglüht.

Vor jedem Versuche wurde das Serum auf seine Keimfreiheit geprüft; es war stets frei von Keimen. Die Untersuchung wurde nun in der Weise ausgeführt, daß abgemessene Mengen des Milchserums in sterilen Erlenmeyer-Kölbchen oder Reagenzgläsern mit bestimmten Mengen von Keimen versetzt und nach Zwischenräumen die Keime gezählt wurden. Benutzt wurde *Bacterium typhi* und *Bacterium coli commune*.

Versuch I (12. Februar 1904).

1 l um 5 Uhr vormittags gemolkene Milch, um $1\frac{1}{2}$ Uhr in das Laboratorium gebracht, dort im Eisschrank gehalten. Beginn der Filtration um 10 Uhr vormittags. Dauer derselben $5\frac{3}{4}$ Stunde. Menge des Filtrats nach dieser Zeit 82 ccm.

Von je 1 ccm des Filtrats eine Agarplatte angelegt: Beide Platten nach 24-stündigem bzw. 48-stündigem Verweilen bei 37° steril. Testkulturen: a) 1 Oese 12-stündiger Typhusbouillonkultur in 20 ccm steriler Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Aus 0,1 ccm dieser Aufschwemmung wachsen auf Agarplatten 222 Keime.

- | | |
|---|-------------|
| 1) 10 ccm Milchserum mit 0,1 ccm Typhus um 4 Uhr gemischt | |
| 2) 10 " " " 0,1 " " " 4 " " | |
| 3) 10 " " " 0,1 " " " 4 " " | |
| 4) 10 " " " 0,1 " " " 4 " " | |
| 5) 10 " " ohne Zusatz | } Kontrolle |
| 6) 10 " Bouillon mit 0,1 ccm Typhus | |

Alle Proben 20 Stunden (bis zum 13. Febr. 12 Uhr mittags) im Zimmer bei 18—20° C gehalten. Probe 1—5 äußerlich nicht verändert; klar ohne Niederschlag. Probe 6 stark getrübt. Von 1—5 nach kräftigem Schütteln aus je 0,1 ccm Agar Platten angelegt und nach 24 Stunden bei 37° C ausgezählt. Von Kolben 6 angefertigtes Präparat im hängenden Tropfen zeigt zahlreiche lebhaft sich bewegende Stäbchen.

Die Agarplatten enthalten

von 1) 89 Keime, 1 Rasen.	Das heißt in 10 ccm Milchserum ca.	8 900 Keime.
" 2) 140 "	" " " 10 " "	" 14 000 "
" 3) 108 "	" " " 10 " "	" 10 800 "
" 4) 190 " 1 großer Rasen.	" " " 10 " "	" 19 000 "
" 5) steril!		

Es hat also keine bakterizide Einwirkung stattgefunden, vielmehr haben die eingesäten Typhusbacillen — entsprechend der geringen Temperatur nicht sehr erheblich — sich vermehrt.

Versuch II (29. Februar 1904).

Milchprobe wie in Versuch I behandelt. Nach 8-stündigem Filtrieren etwa 100 ccm Serum erhalten.

1 ccm Serum auf Agarplatte ausgesät, läßt keine Kolonie auskeimen. Eine zweite Aussaat von 5 ccm des Serums auf Agar bleibt ebenfalls steril.

Als Testkultur dient *Bacterium coli*, frisch aus Faeces isoliert. Eine Kochsalzaufschwemmung derselben enthielt in 1 ccm rund 8750 Keime.

		Am 1. III. 1 Uhr mittags je 0,05 ccm auf Agar ausgesät. Zahl der aufgegangenen Kolonien nach 24 Stdn. bei 37° am 2. III.
1) 29. II.	10 ccm Serum + 0,1 ccm Coli. Nach 20 Stunden bei 18,5° C klar	∞
2) 29. II.	15 ccm Serum + 0,1 ccm Coli. Nach 20 Stunden bei 18,5° C klar	∞
3) 29. II.	20 ccm Serum + 0,1 ccm Coli. Nach 20 Stunden bei 18,5° C leicht getrübt	∞
4) 29. II.	10 ccm Serum + 0,1 ccm Coli. Nach 20 Stunden bei 37° C stark getrübt	∞
5) 29. II.	20 ccm Serum + 0,1 ccm Coli. Nach 20 Stunden bei 37° C stark getrübt	∞
6) 29. II.	10 ccm Bouillon + 0,1 ccm Coli (Kontrolle). Nach 20 Stunden bei 18,5° C stark getrübt	∞ keine Platte; nur Präparat im hängenden Tropfen. Steril.
7) 29. II.	10 ccm Serum ohne Zusatz (Kontrolle). Nach 20 Stunden bei 37° C klar	Aussaat von 2 ccm

Die eingesäten Keime haben sich sowohl bei Zimmertemperatur wie bei 37° enorm vermehrt. Eine bakterizide Wirkung der im Milchserum enthaltenen Eiweißkörper ist nicht zu konstatieren.

Versuch III (10. März 1904).

Milch wie in den vorigen Versuchen behandelt. Nach 8-stündigem Filtrieren etwa 70 ccm klares, aber leicht gelbliches Filtrat.

2,5 ccm Filtrat auf Agarplatte zeigen nach 48 Stunden keine Keime. Testkultur: *Bacterium coli* (aus enteritischen Faeces). 1 ccm der verwendeten Bakterien-Kochsalzaufschwemmung enthält rund 290 000 Keime.

		Am 11. III. je 0,1 ccm auf Agarplatte ausgesät von 1, 2, 3 u. 5. Zahl der aufgegangenen Kolonien nach 48 Stunden bei 37°
1) 10. III.	10 ccm Serum + 0,01 ccm Coli. Nach 20 St. bei 20° C am 11. III. klar	148, d. h. pro 10 ccm Serum 14 800
2) 10. III.	10 ccm Serum + 0,01 ccm Coli. Nach 20 St. bei 20° C am 11. III. klar	167, „ „ „ 10 „ „ 16 700
3) 10. III.	10 ccm Serum + 0,01 ccm Coli. Nach 20 St. bei 20° C am 11. III. klar	135, „ „ „ 10 „ „ 13 500
4) 10. III.	10 ccm Bouillon + 0,01 ccm Coli (Kontrolle). Nach 20 St. bei 20° C am 11. III. trübe	hängender Tropfen: ∞
5) 10. III.	10 ccm Serum + 0,01 ccm Coli. Nach 20 St. bei 37° C am 11. III. trübe	∞
6) 10. III.	10 ccm Serum ohne Zusatz (Kontrolle). Nach 20 St. bei 37° C am 11. III. klar	2 ccm ausgesät: steril

10 ccm Milchserum enthielten bei Beginn des Versuches rund 2900 Keime. Die Zahl der letzteren hat sich demnach bei 20-stündigem Stehen bei 20° um das etwa 4—5-fache, bei 37° unendlich vermehrt.

Versuch IV (15. März 1904).

Nach 6-stündigem Filtrieren der Milch etwa 60 ccm Filtrat erhalten, welches sich als steril erweist (1 ccm auf Agarplatte). Filtration wird fortgesetzt. Testkultur: *Bacterium typhi*. 1 ccm enthält rund 16 000 Keime.

- 1) 15. III. 10 ccm Serum + 0,5 ccm Typhus bei 18° C am 16. III. klar: 0,1 ccm enthalten 182 Keime.
- 2) 15. III. 10 ccm Serum + 0,2 ccm Typhus bei 18° C am 16. III. klar: 0,1 ccm enthalten 196 Keime.
- 3) 15. III. 10 ccm Serum + 0,2 ccm Typhus bei 37° C am 16. III. trübe: 0,1 ccm enthalten ∞ Keime.

- 4) 15. III. 10 ccm Serum + 0,1 ccm Typhus bei 37° C am 16. III. trübe: 0,1 ccm enthalten ∞ Keime.
- 5) 15. III. 5 ccm Serum ohne Zusatz (Kontrolle) bei 37° C am 16. III. klar: 0,5 ccm steril.
- 6) 15. III. 10 ccm Bouillon + 0,1 ccm Typhus (Kontrolle) bei 18° C am 16. III. trübe: ∞ Keime.

D. h. 10 ccm No. 1, welche ursprünglich 8000 Keime enthielten, haben jetzt 18 200 Keime; 10 ccm No. 2, welche ursprünglich 3200 Keime enthielten, haben jetzt 19 600 Keime.

Aus derselben Milch stammendes, nach etwa 15-stündigem Filtrieren erhaltenes Serum wird 4 Tage (bis zum 19. März) im Eisschrank gehalten und dann mit *Bacterium coli* geprüft. 1 ccm der zugefügten Coli-Aufschwemmung enthält rund 70 000 Keime.

- 1) 19. III. 10 ccm Serum + 0,5 ccm Coli bei 18° C am 20. III. klar: 0,1 ccm enthalten rund 5000, d. h. 10 ccm Serum 500 000 Keime.
- 2) 19. III. 10 ccm Serum + 0,2 ccm Coli bei 18° C am 20. III. klar: 0,1 ccm enthalten ∞ Keime.
- 3) 19. III. 10 ccm Serum + 0,1 ccm Coli bei 18° C am 20. III. klar: 0,1 ccm enthalten ∞ Keime.
- 4) 19. III. 10 ccm Serum + 0,2 ccm Coli bei 37° C am 20. III. ganz leicht getrübt: 0,1 ccm enthalten ∞ Keime.
- 5) 19. III. 10 ccm Serum + 0,1 ccm Coli bei 37° C am 20. III. ganz leicht getrübt: 0,1 ccm enthalten ∞ Keime.
- 6) 19. III. 10 ccm Serum ohne Zusatz bei 37° am 20. III. klar: 1 ccm bleibt steril.

Versuch V (19. März 1904).

Milch 9 Stunden filtriert; Filtrat, etwa 60 ccm, zeigt sich bei Aussaat auf Agar (1 ccm) steril.

Testkultur: *Bacterium coli*. 1 ccm der Aufschwemmung enthält rund 70 000 Keime. Die Untersuchung der mit der Kultur versetzten Milchserumproben geschah in diesem und im nächsten Versuch erst nach 48 Stunden, um festzustellen, ob vielleicht nach längerer Zeit eine bakterizide Wirkung sich geltend macht.

- 1) 19. III. 10 ccm Serum + 0,5 ccm Coli bei 18° C am 21. III. klar: 0,1 ccm enthalten ∞ Keime.
- 2) 19. III. 10 ccm Serum + 0,2 ccm Coli bei 18° C am 21. III. klar: 0,1 ccm enthalten ∞ Keime.
- 3) 19. III. 10 ccm Serum + 0,1 ccm Coli bei 18° C am 21. III. klar: 0,1 ccm enthalten rund 300 Keime.
- 4) 19. III. 10 ccm Serum + 0,1 ccm Coli bei 18° C am 21. III. klar: 0,1 ccm enthalten über 100 000 Keime.
- 5) 19. III. 5 ccm Serum ohne Zusatz (Kontrolle) bei 37° C am 21. III. klar: 1 ccm steril.

D. h. 10 ccm Serum No. 3 enthielten bei Beginn etwa 7000 Keime, nach 48 Stunden 30 000 Keime. Von No. 4 am 22. März 0,01 ccm (0,1 + 3,9 NaCl) ausgesät, am 24. März gezählt: ∞ . Am 23. März von Kolben 1—4 je 0,1 ccm ausgesät: Ueberall ∞ Kolonien. Die Kolben hatten während dieser Zeit bei 18° gestanden. No. 1, 2, 4 zeigten eine leichte Trübung und ganz geringen Bodensatz. No. 3 war klar geblieben.

Versuch VI.

Milchserum am 19. April, etwa 40 ccm innerhalb 5 Stunden, gewonnen, bis zum 20. April im Eisschrank gehalten und dann durch Agarplatte (1 ccm) als keimfrei erwiesen. Testkultur: *Bacterium coli*. 1 ccm enthält rund 4500 Keime.

- 1) 20. IV. 10 ccm Serum + 0,5 ccm Coli bei 20° C nach 24 Stunden klar: 0,5 ccm enthalten ∞ Keime.

- 2) 20. IV. 10 ccm Serum + 1,0 ccm Coli bei 20° C nach 24 Stunden klar: 0,5 ccm enthalten ∞ Keime.
3) 20. IV. 5 ccm Serum ohne Zusatz (Kontrolle) bei 37° nach 24 Stunden klar: 1 ccm steril.

Am 22. April nach 48 Stunden enthalten je 0,5 ccm No. 1 und 2 ∞ Keime.

Aus diesen 6 Versuchen dürfte sich zwangslos der Schluß ziehen lassen, daß den löslichen Eiweißkörpern der Milch eine spezifische bakterizide Wirkung gegen *Bacterium coli commune* und gegen *Bacterium typhi* nicht zukommt.

Ich benutze die Gelegenheit, Herrn Prof. Dr. A. Baginsky für das rege Interesse, welches er meinen Versuchen entgegenbrachte, wärmsten Dank abzustatten.

Nachdruck verboten.

Ueber Händedesinfektion und -desinfektion.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Göttingen.
Direktor: Prof. Dr. v. Esmarch.]

Von Dr. O. Seitz.

Die Frage der Händedesinfektion für die Vorbereitung von aseptischen Operationen hat in den letzten Jahren eine so eingehende Erörterung gefunden, daß es kaum möglich sein wird, wesentlich Neues hinzuzufügen. Die in großer Zahl angestellten experimentellen Untersuchungen haben sämtlich zu dem Resultate geführt, daß es trotz der sorgfältig ausgearbeiteten Methoden nicht möglich ist, die Hände mit Sicherheit keimfrei zu machen. Der Grund dafür muß wohl in dem schwer zugänglichen Sitz der Mikroorganismen, die in den Ausführungsgängen der Drüsen sich der Einwirkung der Desinfektionsmittel entziehen, gesucht werden.

Wesentlich anders liegen die Verhältnisse, wenn es sich nicht darum handelt, diese in der Tiefe sitzenden Bewohner der Haut abzutöten, sondern wenn es darauf ankommt, Bakterien, die erst kurze Zeit vorher von außen an die Hände gelangt sind, wieder zu entfernen, mit anderen Worten, wenn es gilt, die Uebertragung von Infektionskrankheiten durch die Hände zu verhüten unter Umständen, wie sie in der Praxis häufig genug vorkommen. Es ist von vornherein anzunehmen, daß die Abtötung hier viel leichter sein wird als bei der Desinfektion zu chirurgischen Zwecken, da wir voraussetzen dürfen, daß die unter den Verhältnissen der Praxis an die Hände gelangten pathogenen Mikroorganismen meist nicht so tief in die Haut eingedrungen und deshalb der Einwirkung der Desinfektionsmittel leichter zugänglich sind. Einer Anregung von Herrn Professor Dr. v. Esmarch folgend, habe ich daher versucht, die Frage der Händedesinfektion von diesem für die Praxis wichtigen Gesichtspunkte aus zu erörtern. Ich mußte zu diesem Zwecke zunächst feststellen, inwieweit in der Praxis möglichst angepaßten Experimenten keimhaltiges Material eine Verunreinigung der Hände hervorruft. Unter natürlichen Verhältnissen können die Krankheitserreger auf zwei Wegen auf die Hände gelangen, durch die Luft und

durch Berührung. Diese beiden Wege wurden deshalb von mir zunächst zur Infektion der Hände benutzt.

Zur Technik der Versuche bemerke ich folgendes. Bevor ich an die Versuche herantrat, bemühte ich mich, durch intensive und langdauernde Waschungen (15 Minuten und länger) mit Wasser, Bürste und Seife die Hände möglichst keimarm zu machen. Die Resultate waren aber so wenig ermutigend, daß ich mich weiterhin damit begnügt habe, unmittelbar vor jedem Versuche festzustellen, daß die Hände frei waren von den zu den Versuchen benutzten Bakterienarten (*Prodigiosus*, Luftkokken, kenntlich durch die Produktion von gelbem Farbstoff, *Bacillus coli communis*). Antiseptica auf die Hände zu bringen, war von vornherein deswegen nicht ratsam, weil durch zurückbleibende Spuren auch die zur Infektion benutzten Bakterien hätten leiden können.

Nach Vornahme der Verunreinigung wurde von den Händen abgeimpft. Dies geschah mit einem kleinen sterilen Schwämmchen, welches sodann auf eine Agarplatte ausgestrichen wurde. Alle anderen Methoden der Probeentnahme, wie sie in den Versuchen für chirurgische Händereinigung angewendet worden sind (Streichholz, Seidenfäden), erwiesen sich zu diesen Versuchen als nicht brauchbar. Zur Abimpfung wurde immer eine Fläche von etwa 4 qcm genommen; ich habe mich dabei so genau wie irgend möglich an diese Ausdehnung gehalten.

An die Probeentnahme schloß sich die Waschung an und daran eine erneute Probeentnahme von einer gleich großen der ersten Entnahme dicht benachbarten Stelle der Handfläche wie bei der ersten Abimpfung.

Zur Infektion auf dem Luftwege wurde nun folgender Weg eingeschlagen. Ich stellte mir zunächst eine Aufschwemmung von Bakterien her, indem ich 3 Platinösen in einer Flüssigkeitsmenge von 15 ccm fein verteilte. Diese Aufschwemmung wurde in einem wenig benutzten zugfreien Raume von einer Hilfsperson mittels eines Sprayapparates zerstäubt. Sehr brauchbar erwies sich zu diesem Zwecke eine gewöhnliche Fahrradpumpe. Zwischen Pumpe und Sprayapparat wurde ein Windkessel in Gestalt einer Literflasche mit doppelt durchbohrtem Kork und Ventilverschluß des zuführenden Rohres eingeschaltet. Auf diese Weise ließ sich unter beträchtlichem Druck ein sehr feiner, absolut gleichmäßiger Verstäubungsstrahl herstellen. Die Aufschwemmung fand zwecks möglichst weiter Verteilung an einem bestimmten hoch gelegenen Punkte des Zimmers Aufstellung. 5 Minuten nach beendigter Zerstäubung setzte ich 3 m von diesem Punkte entfernt die Hände (Rücken der einen Hand, Innenfläche der anderen Hand) 8 Minuten lang der Zimmerluft aus. Die Zeit von 8 Minuten hatte sich durch vielfache Vorversuche als praktisch am brauchbarsten erwiesen. In unmittelbarer Nähe der Hände wurde, mit Ausnahme einiger weniger Versuche, zugleich eine Agarplatte der Zimmerluft mit ausgesetzt. Eine Reihe von Verstäubungsversuchen wurde auch in der Weise ausgeführt, daß die zerstäubende Person mit der Aufschwemmung während des Versprays im Zimmer umher ging. Die Versuche ergaben ein gleiches Resultat wie die nach der oben beschriebenen Weise angestellten. Im allgemeinen wurde aber die erstere Methode deswegen angewandt, weil nur auf diese Weise eine genaue Uebereinstimmung bei den einzelnen Versuchen zu erzielen war.

Als Testobjekt wurde zunächst der *Prodigiosus* benutzt, von

welchem eine Aufschwemmung in Wasser hergestellt wurde. Einige Vorversuche ergaben, daß es keinen Unterschied machte, ob destilliertes oder Leitungswasser benutzt wurde. Es wurde meist Leitungswasser benutzt.

Ich führe nunmehr zunächst eine Serie von diesen Versuchen hier an:

			auf der Luftagarplatte	
1) 12.	XI. 1903.	Kein Prodigiosus an den Händen		
2) 13.	XI. 1903.	" " " " "		
3) 15.	XI. 1903.	" " " " "		
4) 20.	XI. 1903.	" " " " "	416	Kolonien
5) 22.	XI. 1903.	" " " " "	320	"
6) 23.	XI. 1903.	4 qcm der linken Handinnenfläche 2 Prodigiosuskeime	} 544	"
		4 qcm des rechten Handrückens 0 Keime		
7) 15.	XII. 1903.	4 qcm der l. H.-Fläche 91 Kolonien	216	"
8) 18.	XII. 1903.	4 qcm der l. H.-Fläche 1 Kolonie	} 35	"
		4 qcm des r. H.-Rückens 3 Kolonien		
9) 5.	II. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 2 Kolonien	} 103	"
		4 qcm des r. H.-Rückens 5 Kolonien		
10)		4 qcm der l. H.-Fläche 1 Kolonie	} 81	"
		4 qcm des r. H.-Rückens 0 Kolonien		
11) 12.	III. 1904.	0 Prodigiosuskolonien	0	"
12) 15.	III. 1904.	0 Prodigiosuskolonien	4	"
13) 15.	III. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 1 Kolonie	} 117	"
		4 qcm des r. H.-Rückens 1 Kolonie		
14) 16.	III. 1904.	0 Prodigiosuskolonien	81	"

In allen diesen Fällen ergab sich nach einer kurzen, im ganzen $\frac{3}{4}$ —1 Minute in Anspruch nehmenden, Reinigung der Hände (Seife, Wasser, steriles Handtuch) völlige Keimfreiheit von Prodigiosus.

Es ließ sich demnach bei diesen 14 Versuchen nur in einem Falle von den Händen eine größere Anzahl Keime abimpfen, in 8 Fällen ließ sich überhaupt kein Prodigiosus-Keim übertragen und 5mal blieb die Zahl wesentlich hinter der Zahl der auf die Agarplatte direkt gefallenen Keime zurück.

Durch dieses auffallend negative Resultat veranlaßt nahm ich unter gleichen Bedingungen Zerstäubungen eines aus der Luft isolierten sehr resistenten Coccus vor, welcher durch die Produktion von gelbem Farbstoff leicht kenntlich war.

Die Versuche fielen folgendermaßen aus:

		auf der Luft- agarplatte	nach der Waschung
1) 11. XII. 1903.	4 qcm der l. H.-Fläche 80 Kol. 4 qcm des r. H.-Rückens 48 Kol.	} zahllose Kol.	0 Kol.
2) 18. XII. 1903.	4 qcm der l. H.-Fläche 90 Kol. 4 qcm des r. H.-Rückens 330 Kol.		
3) 1. II. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 150 Kol. 4 qcm des r. H.-Rückens 164 Kol.	} 400 Kol.	0 "
4) 6. II. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 25 Kol. 4 qcm des r. H.-Rückens 35 Kol.		
5) 13. II. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 7 Kol. + eine dicke Schicht im Schwamm 4 qcm des r. H.-Rückens 10 Kol.	} 716 "	0 "
6) 15. III. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 34 Kol. 4 qcm des r. H.-Rückens 64 Kol.		
		} 46 "	0 "
		} 144 "	0 "
		} zahllose Kol.	8 "
			12 "

Im Gegensatz zu den Versuchen mit Prodigiosus zeigen diese Versuche, daß sich von den Händen jedesmal Keime vor der Waschung auf die Agarplatte übertragen ließen, zum Teil waren sie sehr zahlreich

vorhanden. Mit Ausnahme des letzten Versuches genügte die einfache Waschung stets, um die Hand wieder von den Keimen zu befreien.

Auch die Versuche mit *Prodigiosus* fielen anders aus, als ich statt des Wassers zur Aufschwemmung gewöhnliches Blutserum benutzte.

Die Resultate sind folgende:

		auf der Luft- agarplatte	nach der Waschung
1) 29. XI. 1903.	4 qcm der l. H.-Fläche 2220 Kol.	} zahllose Kol.	11 Kol.
	4 qcm des r. H.-Rückens 2640 Kol.		124 "
2) 5. XII. 1903.	4 qcm der l. H.-Fläche 528 Prod.-Kol.	} " "	7 "
	4 qcm des r. H.-Rückens 240 Prod.-Kol.		3 "
3) 10. XII. 1903.	4 qcm der l. H.-Fläche 83 Kol.	} " "	0 "
4) 14. I. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 84 Kol.		0 "
	4 qcm des r. H.-Rückens 50 Kol.	} " "	0 "
5) 10. II. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 15 Kol.		0 "
	4 qcm des r. H.-Rückens 93 Kol.	} 2000 Kol. Außerdem viele in den Schwämmen	1 "
6) 14. III. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 8 Kol.		
	4 qcm des r. H.-Rückens 22 Kol.		

Die in entsprechender Weise vorgenommenen Versuche mit Aufschwemmung von gelbem Luftcoccus in Blutserum ergaben folgendes Resultat:

		auf der Luft- agarplatte	nach der Waschung
1) 2. II. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 84 Kol.	} 736 Kol.	2 Kol.
	4 qcm des r. H.-Rückens 44 Kol.		
2) 10. II. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 39 Kol.	} zahllose Kol.	33 "
	4 qcm des r. H.-Rückens 99 Kol.		
3) 14. III. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 30 Kol.	} 789 Kol.	6 "
	4 qcm des r. H.-Rückens 60 Kol.		

Es ergab demnach eine Verstäubung der Serumaufschwemmung von *Prodigiosus* und gelben Luftkokken stets lebensfähige Keime auf den Händen, zum Teil in sehr großer Anzahl.

Die Waschung, in der gewöhnlichen einfachen Weise vorgenommen, genügte nur in der Hälfte der *Prodigiosus*-Versuche zur völligen Reinigung. Sie leistete immerhin auch in den anderen Versuchen stets Erhebliches.

Den Verhältnissen der Praxis entsprachen schließlich am meisten folgende Versuche, bei denen als Aufschwemmungsflüssigkeit Speichel benutzt wurde.

		auf der Luft- agarplatte	nach der Waschung
1) 1. XII. 1903.	4 qcm der l. H.-Fläche 320 Prod.-Kol.	} 3420 Kol.	0 Kol.
	4 qcm des r. H.-Rückens 10 Kol.		8 "
2) 9. XII. 1903.	4 qcm der l. H.-Fläche 0 Kol.	} 60 "	3 "
	4 qcm des r. H.-Rückens 0 Kol.		
3) 11. XII. 1903.	4 qcm der l. H.-Fläche 138 Kol.	} zahllose Kol.	0 "
	4 qcm des r. H.-Rückens 73 Kol.		
4) 13. XII. 1903.	4 qcm der l. H.-Fläche 70 Kol.	} " "	0 "
	4 qcm des r. H.-Rückens 65 Kol.		
5) 11. III. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 1 Kol. + zahlreiche im Schwämmchen	} 256 Kol.	0 "
	4 qcm des r. H.-Rückens 7 Kol.		
6) 16. III. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 24 Kol. + viele im Schwamm	} 800 "	0 "
	4 qcm des r. H.-Rückens 23 Kol.		

Aufschwemmungen von gelben Luftkokken in Speichel ergaben folgendes Resultat:

		auf der Luft- agarplatte	nach der Waschung
1) 18. II. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 1212 Kol.	1680 Kol.	6 Kol.
	4 qcm des r. H.-Rückens 528 Kol.		1 "
2) 11. II. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 87 Kol.	352 "	14 "
	4 qcm des r. H.-Rückens 272 Kol.		

Auch unter diesen Umständen waren die Versuche mit *Prodigiosus* bis auf einen positiv, es wuchsen zum Teil große Mengen von Keimen aus. Die Versuche mit gelben Luftkokken ergaben ebenfalls in jedem Falle recht zahlreiche, lebensfähige Keime auf den Händen.

Die Waschung genügte nie bei den gelben Luftkokken, stets bei den *Prodigiosus*-Versuchen mit Ausnahme eines Falles. Sie leistete stets verhältnismäßig viel.

Ueberblicken wir diese Versuche in ihrer Gesamtheit, so fällt zunächst die geringe Widerstandsfähigkeit des fein versprayten *Prodigiosus* auf. Das zeigt sich besonders bei den Versprayungsversuchen mit Wasser. Ferner muß angenommen werden, daß auch durch die einfache Waschung mit Seifenwasser der *Prodigiosus* abgetötet worden ist. Wäre nur eine mechanische Entfernung vorhanden, so könnten die Resultate nicht in dem Maße, wie sie es tun, von den Luftkokkenversuchen abweichen. Der *Prodigiosus* ist zu allen ähnlichen Versuchen ein beliebtes Testobjekt. Es mag daher immerhin von Wichtigkeit sein, daß diese Versuche seine unter Umständen sehr geringe Widerstandsfähigkeit beweisen.

Vergleicht man hiermit die Versuche, die mit den Serum- und Speichelaufschwemmungen vorgenommen wurden, so kann man den Schluß ziehen, daß es die schleimige Umhüllung, welche sowohl Serum wie Speichel bieten, ist, welche dem *Prodigiosus* einen Schutz gegen rasches Absterben verliehen haben. Ich möchte im Anschluß an diese Resultate darauf hinweisen, daß alle bis jetzt bekannten Bakterien, welche eine Infektion auf dem Luftwege hervorrufen, in einer Umhüllung mit Speichel und Schleim aus den Lungen oder dem Rachenraume der Kranken an die Außenwelt befördert werden. Andererseits weiß man, daß z. B. bei langdauernden Bauchoperationen, trotzdem die Luft stets pathogene Keime, wie Streptokokken, enthält, kaum eine Infektion auf dem Luftwege zu befürchten ist. Inwieweit eine Konservierung in der schleimigen Umhüllung oder eine Abschwächung ohne dieselbe hier eine Rolle spielen, müßte aber durch spezielle Versuche festgestellt werden.

Die Resultate der einfachen, 1 Minute dauernden Waschung, welche wohl den gewöhnlichen Verhältnissen entspricht, sind bei dieser Art der Infektion auf dem Luftwege, obschon sie in vielen Fällen erhebliches leistete, im ganzen doch als nicht genügende zu bezeichnen, um eine Weiterinfektion durch die Hände späterhin mit Sicherheit auszuschließen. Ich habe daher schließlich noch eine Reihe von Versuchen vorgenommen, in welchen ich einer etwa 30 Sekunden dauernden Waschung mit Wasser und Seife eine ebenso lange Reinigung der Hände mit der Bürste in einer 1-prom. Sublimatlösung folgen ließ. Die Versuche sind folgende:

I. Verstäubung einer *Prodigiosus*-Aufschwemmung in Blutserum.

		auf der Luft- agarplatte	nach der Waschung
1) 30. VIII. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 22 Kol. 4 qcm des r. H.-Rückens 44 Kol.	} zahllose Kol.	} 0 Kol.
2) 31. VIII. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 14 Kol. 4 qcm des r. H.-Rückens 31 Kol.		
3) 1. VIII. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 10 Kol. 4 qcm des r. H.-Rückens 3 Kol. + eine Schicht im Schwämmchen	} 1879 „	} 0 „
4) 2. VIII. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 1 Kol. 4 qcm des r. H.-Rückens 0 Kol.		
5) 3. VIII. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 11 Kol. 4 qcm des r. H.-Rückens 10 Kol. + eine Schicht im Schwämmchen	} 636 „	} 0 „
6) 5. VIII. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche 47 Kol. 4 qcm des r. H.-Rückens 20 Kol.		
		} 1320 „	} 0 „

II. Verstäubung einer Aufschwemmung von gelben Luftkokken in Serum.

		auf der Luft- agarplatte	nach der Waschung
1) 30. VII. 1904.	4 qcm der l. H.-Fläche unzählige Kol.	} unzählige Kol.	} 0 Kol.
2) 31. VII. 1904.	4 qcm des r. H.-Rückens 1400 Kol. 4 qcm der l. H.-Fläche 234 Kol.		
3) 1. VIII. 1904.	4 qcm des r. H.-Rückens 39 Kol. 4 qcm der l. H.-Fläche 43 Kol.	} 1350 Kol.	} 0 „
4) 2. VIII. 1904.	4 qcm des r. H.-Rückens unbest. 4 qcm der l. H.-Fläche 176 Kol.		
	4 qcm des r. H.-Rückens 246 Kol.	} 896 „	} 0 „
		} 2000 „	} 1 „
			} 0 „

Aus dieser letzten Reihe von Versuchen geht hervor, daß sich nie mehr Kolonien von den versprayten Bakterien entwickelten, wenn an eine Reinigung mit Seife, Wasser und Bürste von der Dauer einer halben Minute noch eine ebenso lange Reinigung der Hände mit einer 1-prom. Sublimatlösung angeschlossen wurde. Ich möchte daher für die Praxis diese Methode der Händereinigung, die sich leicht durchführen läßt, für die Fälle, in denen es sicher nicht zu einer intensiven, direkten Berührung mit keimhaltigem Material kommt, als genügende Vorsichtsmaßregel empfehlen.

Nunmehr gehe ich zur Beschreibung der Versuche, welche im Sinne der direkten Kontaktinfektion gemacht wurden, über. Diese Versuche wurden mit *Bacillus coli communis* vorgenommen. Sie ergaben erst ein brauchbares Resultat, nachdem ich nach vielfachen Versuchen Drigalski-Agar zur Anlegung der Kulturen benutzt habe, welcher die Coli-Kolonien durch den roten Hof, der den anderen Bakterien fehlte, kenntlich machte. Zum Zwecke der Infektion beschmutzte ich ein steriles Handtuch mit frischen Faeces in geringem Maße. Ich ahmte also gewissermaßen eine Infektion nach, wie sie gelegentlich z. B. beim Umbetten eines Typhuskranken vorkommen kann, indem ich die Hände mit diesem Tuche in intensive Berührung brachte. Die Abimpfung geschah in derselben Weise wie bei den vorher beschriebenen Versuchen. Auch zur Entfernung der Coli-Keime wandte ich die kurze, 1 Minute dauernde Waschung an, welche ich in der größeren Anzahl der Luftinfektionsversuche auf ihre Wirksamkeit prüfte.

Die Resultate waren folgende: Auf 4 qcm Handfläche waren

1) 20.	I. 1904.	Nach der Infektion	zahllose Keime von Bacterium coli.
		Nach der Waschung	0 Keime.
2) 2.	II. 1904.	Kartoffelkolonien haben alle Coli-Kolonien überwuchert.	
		Nach der Waschung	0 Keime.
3) 4.	II. 1904.	Nach der Infektion	120 Coli-Kolonien.
		Nach der Waschung	0 Coli-Keime.
4) 10.	II. 1904.	Nach der Infektion	120 Coli-Kolonien.
		Nach der Waschung	0 Keime.
5) 18.	II. 1904.	Nach der Infektion	618 Coli-Kolonien.
		Nach der Waschung	0 Keime.
6) 19.	II. 1904.	Nach der Infektion	78 Coli-Kolonien.
		Nach der Waschung	0 Keime.
7) 18.	II. 1904.	Nach der Infektion	112 Coli-Kolonien.
		Nach der Waschung	0 Coli-Kolonien.
8) 23.	II. 1904.	Nach der Infektion	9 Coli-Kolonien.
		Nach der Waschung	0 Coli-Kolonien.
9) 10.	III. 1904.	Nach der Infektion	zahllose Coli-Kolonien.
		Nach der Waschung	0 Coli-Kolonien.
10) 12.	III. 1904.	Nach der Infektion	42 Coli-Kolonien.
		Nach der Waschung	0 Coli-Kolonien.
11) 11.	III. 1904.	Nach der Infektion	35 Coli-Kolonien.
		Nach der Waschung	0 Coli-Kolonien.
12) 12.	III. 1904.	Nach der Infektion	eine dicke Schicht Coli-Kolonien.
		Nach der Waschung	0 Coli-Kolonien.

In allen diesen Fällen ergab also die kurze Waschung mit Wasser, Seife und Bürste, daß nach derselben nie mehr Coli-Kolonien von den Händen abzuimpfen waren.

Sodann habe ich schließlich noch eine größere Anzahl von Versuchen mit *Prodigiosus* und gelben Luftkokken vorgenommen, indem ich Aufschwemmungen davon direkt auf die Hände sprayte oder in dieselben einrieb. Diese Versuche entsprechen den Verhältnissen der Praxis so wenig, daß es erübrigt, sie einzeln hier anzuführen. Ich erreichte in denselben durch einfache, 1 Minute dauernde Waschungen mit Seife, Wasser und Bürste, abgesehen von wenigen *Prodigiosus*-Versuchen, niemals Keimfreiheit, meist waren auch nach der Waschung die Keime nicht zu zählen. Fügte ich sodann ein etwa 20 Sekunden dauerndes Handbad in einer antiseptischen Lösung (1-prom. Sublimat, $1\frac{1}{2}$ -proz. Lysoform) hinzu, so besserte sich das Resultat der Desinfektion in bemerkenswerter Weise. Es kamen in einzelnen Fällen auf einer Fläche von 4 qcm noch annähernd 1000 Keime zur Entwicklung, nie wurde diese Zahl überschritten, meist waren erheblich weniger Keime vorhanden.

Wenn daher nach den obigen, im Sinne der den natürlichen Verhältnissen entsprechenden Kontaktinfektion angestellten Versuchen die Wirksamkeit einer einfachen Waschung mit Wasser und Seife eine sehr gute ist, sofern sie nur sofort nach der Infektion vorgenommen wird, so lassen doch diese letzten Versuche über die Wichtigkeit eines kurzen Handbades in einer antiseptischen Lösung keinen Zweifel bestehen. Andererseits beweisen sie aber auch die wichtige Tatsache, daß trotz der Reste von Sublimat und Lysoform, welche von dem Handbade an den Händen haften geblieben sein mögen, sich unter besonderen Umständen lebensfähige Keime in großer Anzahl übertragen lassen.

Zum Schlusse gestatte ich mir, Herrn Prof. Dr. v. Esmarch sowie Herrn Prof. Dr. Reichenbach meinen herzlichsten Dank für die vielfache Anregung und Unterstützung bei dieser Arbeit zu sagen.

Nachdruck verboten.

Einige Angaben zur Differenzierung von Streptokokken.

Von Dr. **Mervyn H. Gordon** in London.

Ins Deutsche übersetzt von Dr. E.

In einer früheren Mitteilung, die in Bd. XXXV. 1903. Heft 2 dieses Centralblattes zum Abdruck gelangt ist, habe ich darauf hingewiesen, daß das sogenannte Rothbergersche neutrale Rot behufs Vornahme der Differenzierung von Streptokokken verwendbar sei. Weitere Untersuchungen, die auf die Differenzierung von Streptokokken hinzielten, haben das interessante Resultat ergeben, daß jeder der folgenden Substanzen: Saccharose, Laktose, Raffinose, Inulin, Salicin und endlich Mannite, ein gewisser Wert nach dieser Richtung hin zukommt. Was die Anwendungsweise der eben genannten Substanzen für den in Betracht kommenden Zweck anbelangt, so geschieht sie am besten in der folgenden Form: Fleischpeptonbouillon gewöhnlicher Art wird zuerst vom Gehalt an Zucker dadurch befreit, daß man darin *B. coli communis* während dreier Tage bei einer Temperatur von 37° C kultiviert. Nach Beendigung dieses Prozesses wird sterilisiert, gereinigt, leicht alkalisch gemacht und darauf mit Litmus versetzt. Nun erfolgt die Hinzufügung der Substanzen (Saccharose, Laktose u. s. w.), die einer Prüfung unterzogen werden sollen, und zwar in dem Verhältnis von 1 Proz. Der Nährboden wird ferner durch Abdampfenlassen für eine halbe Stunde in 2 aufeinanderfolgenden Tagen sterilisiert.

Nun wird der *Streptococcus*, der untersucht werden soll, auf die Litmusbouillon, die die eine oder die andere der Prüfungssubstanzen (Saccharose, Laktose u. s. w.) enthält, übertragen.

Die Kultur wird ferner auf aërobischem Wege behandelt und im Inkubator bei einer Temperatur von 37° C für 3 Tage belassen.

Nach Verlauf dieser Zeit, und zwar ohne Unterschied, ob die eine oder die andere der genannten Substanzen zur Verwendung gelangte, rufen gewisse Streptokokken eine unverkennbare saure Reaktion hervor, während andere Streptokokkenarten, obwohl sie sich sonst auf diesem Nährboden gut entwickeln, nicht die Fähigkeit besitzen, eine Veränderung in der Litmusfärbung zu bewirken. Das Resultat fällt daher ohne Zweifel positiv oder negativ aus.

Außer diesen 7 differentiellen Prüfungsarten ist es mir noch gelungen, festzustellen, daß die Produktion einer Gerinnung in Litmusmilch von einigem Werte für die Differenzierung von Streptokokken ist.

Nachdruck verboten.

Ueber die Kultur der fusiformen Bacillen.

Vorläufige Mitteilung.

Von V. Ellermann, Kopenhagen.

Bekanntlich findet man bei nekrotischen Prozessen des Menschen (Noma, ulceröse Angina, Hospitalsgangrän) Spirillen und spindelförmige Bacillen. Es existiert nur eine einzige Angabe über Reinkultur der fusiformen Bacillen, nämlich von Veillon und Zuber, welche den *Bacillus anaërob* auf Traubenzucker züchten konnten. Es ist mir nun gelungen, in zwei Fällen eine Reinkultur zu bekommen, und da meine Bacillen in einigen Beziehungen von denjenigen von Veillon und Zuber abweichen, möchte ich eine kurze Beschreibung meiner Kulturen geben. In dem ersten Falle handelte es sich um eine tödlich verlaufene, nekrotisierende Stomatitis. Der Bacillus wurde aus dem Absceßseiter eines Kaninchens, das mit einer unreinen Kultur geimpft war, gezüchtet. In dem zweiten Falle wurde der Bacillus direkt aus dem Belage einer ulcerösen Angina gezüchtet. Als Substrat wurde Serum-Agar (2 Teile Agar, 1 Teil flüssiges Pferdeserum) verwendet. Die Kolonien erscheinen nach 2 Tagen, können 1—1½ mm groß werden. Die kleinsten haben ein filzig verzweigtes Aussehen, sie wachsen von den Eiweißklümpchen des Substrates aus. Die größeren Kolonien sind rundlich; die größten oft prismatisch, von leicht gelblicher Farbe. Die Kultur ist übelriechend, Luftblasen werden aber nur ausnahmsweise gebildet. Die Bacillen wachsen nur anaërob. Das Nährsubstrat wird getrübt, aber nicht verflüssigt. In Serumbouillon unter Pyrogallussäure-Verschuß bilden sich nach 24 Stunden große weiße Flocken, die später zu Boden sinken. Auf der Oberfläche von Serum-Agar entwickeln sich anaërob kleine, streptokokkenähnliche Kolonien oder ein feinkörniger, zusammenhängender Belag. In gewöhnlichem Agar oder Bouillon wachsen die Bacillen nicht, ebenso wenig in Traubenzucker-Agar oder Hesses Agar. In Serum-Agar sind die Bacillen bis jetzt in 9 Generationen fortgezüchtet worden, ohne daß eine Abnahme in der Wachstumsenergie beobachtet worden ist.

Mein Bacillus ist ein schlankes, gerades Stäbchen mit zugespitzten Enden und schwach und ungleichmäßig gefärbtem Protoplasma. Die Länge beträgt 5—12 μ , zuweilen werden sehr lange Fäden gebildet. Oft hängen 2 Bacillen mit ihren Enden zusammen. Eine Anschwellung in der Mitte wird gewöhnlich nicht beobachtet. Der Bacillus ist unbeweglich.

Nach Gram oder Weigert behält er die Färbung bei kurzer Entfärbung. Nach Claudius wird er schnell entfärbt. Er enthält keine Babes-Ernstsche Körnchen.

Der hier beschriebene Bacillus entspricht der langen Form der Vincentschen Bacillen. Diese Form muß also einerseits von den feinen Spirillen, andererseits von den kurzen, gebogenen und gewundenen, spindelförmigen Elementen, die auch bei den obengenannten Krankheiten zu finden sind, getrennt werden. Die meisten Untersucher sind auch der Ansicht, daß das feine Spirillum oder die Spirochäte eine besondere Art darstellt. Das war schon deshalb wahrscheinlich, weil sie sich bei Gram viel schneller als der Bacillus entfärbte. Ferner wurde das Spirillum lebhaft beweglich, der Bacillus dagegen unbeweglich gefunden.

Aber auch die kurzen dicken, komma- oder S-förmig gekrümmten Bacillen müssen von dem oben beschriebenen Bacillus getrennt werden. Diese kurzen Formen sind vielleicht als Spirillen aufzufassen, eine Ansicht, die schon früher von Letulle geäußert ist. Besonders die Bilder von Athanasius zeigen die Krümmungen schön. Selber bin ich zu dieser Auffassung deswegen gekommen, weil ich aus meinem 2. Falle ein kleines Spirillum reinzüchten konnte, dessen kürzere Formen eine große Ähnlichkeit mit den Abbildungen der „kurzen Fusiformes“ darboten. Ebenfalls glichen sie vollständig den kurzen spindeligen Stäbchen, die bei der direkten Untersuchung des Belages gefunden wurden. Das betreffende Spirillum, das also möglicherweise mit gewissen der kurzen spindelförmigen Elementen identisch ist, wächst ebenfalls anaërob in Serum-Agar. Die Kolonien erscheinen nach 3 Tagen und bleiben sehr klein. Sie sind sehr fester Konsistenz, lassen sich leicht mit der Platin-nadel aus dem Substrat herausholen. Die jungen Individuen zeigen in Bouillon eine schraubenartige oder vollständig wirbelnde Bewegung. Die längeren Formen sind wenig beweglich oder unbeweglich. Die Länge beträgt 2—5 μ .

Bei der Annahme von zwei Arten spindelförmiger Bacillen würde man besser die Verschiedenheit der Angaben über die Beweglichkeit verstehen. Es ist leicht verständlich, daß man geglaubt hat, nur eine Form vor sich zu haben, weil tatsächlich gewisse Individuen der beiden Formen einander sehr ähneln können.

Nachdruck verboten.

Ueber den Desinfektionswert verschiedener Handelsmarken von Liquor cresoli saponatus des deutschen Arzneibuches.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Göttingen
(Direktor: Prof. E. v. Esmarch).]

Von Dr. L. Fehrs, Assistenten des Institutes.

Aus Untersuchungen von Fischer und Koske (10) und Uebelmesser (11) geht hervor, daß aus verschiedenen Bezugsquellen stammende Präparate von Liquor cresoli saponatus sehr verschiedenen Desinfektionswert besitzen. Die ersteren beiden Autoren stellten dies mit Methoden fest, welche ihren besonderen praktischen Zwecken — es handelte sich bei ihnen um die Desinfektion von Eisenbahn-Viehtransportwagen — möglichst entsprechen sollten; sie schichteten die zu prüfende Desinfektionsflüssigkeit auf eine mit dichtem Bakterienrasen überzogene Agarplatte und prüften nach gewissen Zeiträumen entnommene Bakterienmengen auf ihre Wachstumsfähigkeit; als Testobjekte zogen sie, auch wieder ihr besonderes praktisches Ziel im Auge behaltend, Schweinepest-, Rotzbacillen und Staphylococcus pyogenes aureus heran. Durch ihre Versuchsanordnung, bei welcher das Desinfektionsmittel eine dicke Bakterien-schicht zu durchdringen hat, erhält man fraglos einen verlässlichen Maßstab für die praktische Verwendbarkeit eines Desinfektionsmittels, das direkte wechselseitige Verhalten von Desinfektionsmittel und Mikroorganismus zueinander, welches doch zur Charakteristik eines Desinfektionsmittels zunächst festgestellt werden

muß, kann dabei jedoch nicht genügend beobachtet werden. Zur Ergänzung dieser Lücke mögen die folgenden Ausführungen, zu denen mich mein hochverehrter Chef, Herr Prof. v. Esmarch, anregte, dienen im Verein mit der Arbeit Uebelmessers, welche mir ebenso wie die Versuche von Fischer und Koske, erst während der Drucklegung dieser Arbeit bekannt wurden. Uebelmesser prüfte die Wirksamkeit einer größeren Anzahl Kresolseifenlösungen in 1-proz. Lösungen dem Bact. coli und Bac. prodigiosus gegenüber. Einen besonderen Wert der nachstehenden Untersuchungen glaube ich aber noch darin zu sehen, daß ihnen Präparate zu Grunde liegen, von welchen ein Teil (III, IV, V) im Göttinger pharmakologischen Institute auf Veranlassung von Herrn Prof. Jacoby durch Herrn Dr. Tollens einer vergleichenden, sehr sorgfältig und gründlich durchgeführten Prüfung auf ihre Giftigkeit höheren Organismen (Mäuse, Katzen) gegenüber unterzogen worden ist (Arch. f. exp. Path. u. Pharmak. Bd. LII. p. 220). Die Präparate, welche mir vorliegen, stammen von:

- | | |
|---------------------------|-------|
| Rump & Lehnerts, Hannover | (I) |
| Merck, Darmstadt | (II) |
| Hofapotheke, München | (III) |
| (Raschig, Ludwigshafen) | |
| Hofapotheke, Stuttgart | (IV) |
| (Raschig, Ludwigshafen) | |
| Hofapotheke, Dresden | (V) |
| (Gehe & Co., Dresden) | |
| Kahlbaum, Berlin | (VI) |

III und IV sind von den Hofapotheken selbst dargestellt aus Cresolum crudum, welches angeblich von Raschig, Ludwigshafen bezogen wurde; das zur Herstellung von V benutzte Cresolum crudum soll der Fabrik Gehe & Co., Dresden entstammen. Die Präparate unterscheiden sich schon durch ihr Aussehen zum Teil augenfällig voneinander. I ist klar, von tief dunkelbrauner Farbe, II ist etwas heller, III im Farbenton wie II, auf der Oberfläche schwimmt eine dünne, etwa 3 mm dicke Schicht einer schmutzig-gelbgrauen Flüssigkeit; schüttelt man III, so entsteht eine undurchsichtige, schmutzig-rotbraune Flüssigkeit; III und V sind klar und von gelbrötlicher Farbe, VI besitzt einen etwas dunkleren Farbenton als IV und V. Mit gleichen Teilen destillierten Wassers versetzt, geben die Präparate klare Lösungen bis auf III, welches in Lösung opalesziert; III, V und VI zeigen nur schwache, IV etwas stärkere Gelbfärbung und II einen intensiv gelblich-braunen Ton.

Zur Feststellung der desinfizierenden Wirksamkeit bediente ich mich folgender von Herrn Prof. Reichenbach im hiesigen Institute geübten Methode. Von einer frischen Bouillonreinkultur der als Testmaterial dienenden Bakterien werden mittels Pipetten, welche in $\frac{1}{10}$ resp. $\frac{1}{100}$ ccm eingeteilt sind, genau abgemessene gleiche Mengen in die zu prüfenden Probeflüssigkeiten übertragen. Letztere stellen Lösungen von bestimmtem Gehalte der Testpräparate dar. Das erhaltene Bakterien-Desinfektionslösungsgemisch wird gründlich durchgeschüttelt; nach gewissen Zeiträumen werden dann von demselben ebenfalls mit Pipetten abgemessene Mengen in Röhrchen mit bestimmten Quantitäten verflüssigter Gelatine resp. Bouillon übertragen. Die Gelatineröhrchen, gut durchgeschüttelt, läßt man schräg erstarren und bewahrt sie bei einer Temperatur von 22° C, die Bouillonröhrchen bei 37° C auf. Zum Nachweise einer etwa vorhandenen wachstumshemmen-

den Wirkung ist eine ständige Kontrolle der Röhrchen erforderlich; zur Feststellung der keimtötenden Kraft zählt man die auf und in der Gelatine gewachsenen Kolonien erst nach beendigem Wachstum.

Die Methode ist durch Einfachheit der Handhabung ausgezeichnet. Was die Dosierung der Bakterienmenge anbetrifft, leistet sie wohl zweifellos Genaueres als die frühere Kochsche (1) Seidenfaden- und die Paul und Krönigsche (2) Granatenmethode. Ungenauer ist auch die Abmessung mit der Platinöse oder, bei Anwendung von Pipetten, durch Zählung der Tropfen, welche bei verschiedenen Pipetten niemals genau gleich sind. Vollkommen genaue Dosierung ist jedoch auch mit der graduierten Pipette nicht möglich, da ja z. B. die Bouillonkultur auch bei gutem Durchschütteln nicht überall die gleiche Anzahl von Keimen enthält. Große Differenzen ergeben sich hierdurch bei einer und derselben Versuchsreihe nicht; bei verschiedenen Versuchsreihen kann freilich der Keimgehalt der Bouillonkulturen erheblich differieren, da ja beim Anlegen der Bouillonkultur, welches durch Ueberimpfen mit der Platinöse geschieht, eine nur sehr ungenaue Dosierung der Bakterienmenge möglich ist. Eine direkte genaue Vergleichung verschiedener Versuchsreihen miteinander lediglich auf Grund der Keimzählung ist deshalb nicht statthaft. Schädigungen des Testmaterials durch die Vorbereitungen, wie sie das Antrocknen bei der Seidenfaden- und der Granatenmethode mit sich bringt, sind ausgeschlossen. Eine Befreiung von Nährsubstrat findet nicht statt; bei Anwendung einer im Verhältnis zu der übertragenen Bouillonkulturmenge reichlichen Probeflüssigkeit und bei gutem Durchschütteln kann dies jedoch nicht ins Gewicht fallen. Die Möglichkeit der Einwirkung des Desinficiens auf jeden einzelnen Keim ist dabei jedenfalls gegeben. Eine besondere Entfernung des Desinficiens nach der jeweiligen Einwirkungsdauer unterbleibt zwar, doch ist die Gefahr einer weiteren Schädigung der überlebenden Keime nur gering, wenn man für eine sehr starke Verdünnung des mitübertragenen Desinficiens dadurch Sorge trägt, daß die Menge des aufzunehmenden Nährmaterials recht groß gewählt wird im Verhältnis zur Quantität des übertragenen Bakterien-Desinficiensgemisches. Die Anwendung schräg erstarrter Gelatineröhrchen an Stelle von Platten hat den Vorzug der Sicherheit gegen Verunreinigungen und ist wesentlich einfacher als die Anfertigung von Rollröhrchen.

Bei den Versuchen bediente ich mich des auch gegen Kresol sehr widerstandsfähigen *Staphylococcus pyogenes aureus*, des sehr vulnerablen *Cholera vibrio*, ferner des *Bac. typh.* und des *Streptococcus pyogenes*, welche bezüglich ihrer Resistenz in der Mitte zwischen den beiden ersteren stehen. Bei allen Versuchen wurden dieselben Stämme benutzt. Die mit einer Oese frischer Agarkultur in 4 ccm Bouillon angelegten Kulturen wurden bis zum Beginn des Versuches der Brütofentemperatur (37° C) ausgesetzt und nach 18 Stunden verwandt. Von den zu prüfenden Kresolpräparaten stellte ich 0,25-proz. wässerige Lösungen her, da einige orientierende Vorversuche gelehrt hatten, daß diese Konzentration gerade dem durchschnittlichen noch wirksamen Grenzwerte bei nicht zu kurzer Einwirkungszeit entsprach und deshalb auch zur Auffindung feinerer Differenzen geeignet sein mußte. Dem besonders leicht zu schädigenden *Vibrio cholerae asiaticae* gegenüber mußte allerdings zu einer 0,1-proz. Lösung gegriffen werden. In 4 ccm der 0,25- bzw. 0,1-proz., in Reagenzgläschen befindlichen Probeflüssigkeiten wurden mit sterilisierten Pipetten 0,1

bezw. 0,05 ccm Bouillonkultur übertragen, das Bakterien-Desinficiensgemisch gut durchgeschüttelt. Die Röhrchen, welche nach 5—120 Minuten mit 0,05 resp. 0,1 ccm dieses Gemisches beschickt wurden, enthielten 8 ccm verflüssigte Gelatine resp. 4 ccm Nährbouillon. Die Zählung der Kolonien fand am 3. Tage statt, wenn nicht drohende Verflüssigung (Staphylokokken, Choleravibrionen) zwang, die Keimzahl schon am 2. Tage festzustellen. Die Bouillonröhrchen gestatteten meist bereits am folgenden Tage eine endgültige Registrierung. Kontrollversuche, bei welchen die Bakterien in sterilisiertes Wasser ohne Zusatz des Desinfektionsmittels übertragen wurden, gingen natürlich bei allen Versuchen nebenher und sind in den Tabellen unter der Rubrik C vermerkt. Blieben die Röhren steril, so wurden sie nachträglich mit den betreffenden Bakterien infiziert, um festzustellen, ob auch nicht etwa durch Mitübertragung von Desinfektionsflüssigkeit der Nährboden zum Wachstum ungeeignet geworden war.

Zur Erläuterung der folgenden Tabellen, welche die Versuchsergebnisse in übersichtlicher Weise darstellen sollen, schicke ich folgendes voraus. Das Zeichen + bedeutet Trübung, 0 Klarbleiben der Bouillon. Der Befund der Gelatinekulturen ist durch Angabe der Keimzahl registriert; bei einer Keimzahl von mehr als 3000 unterblieb eine genaue Zählung, schätzungsweise wurde mit „s“ sehr dicht oder „d“ dicht bezeichnet; war die Zählung wegen zu großer Dichte der Keime nicht möglich, so wurde das Zeichen „u“ = unzählbar gesetzt. Kamen nach dem Tage der Hauptzählung (3. resp. 2. Tag) noch Kolonien zum Vorschein, so wurde die endgültige Keimzahl in Klammern hinzugefügt. An der Spitze jeder einzelnen Versuchsreihe ist die Menge der in die Testlösung übertragenen Bouillonkultur und die Menge des entnommenen Bakterien-Desinficiensgemisches in Kubikcentimetern, ferner die Menge und der Prozentgehalt der Testlösung vermerkt (s. Tab. I).

Aus der Tabelle ist ohne weiteres ersichtlich, daß die Desinfektionskraft der 6 Präparate sehr ungleich ist. II und V stehen an der Spitze, dann folgt VI; I, III, IV wirken bedeutend schwächer und langsamer. Diese so verschiedenen Werte der Präparate müssen sich auf einen verschiedenen Gehalt an wirksamen Bestandteilen gründen. Durch Fraenkels (3) Untersuchungen gewann man die Erkenntnis, daß das hauptwirksame Moment der rohen Karbolsäure in den 3 isomeren Kresolen zu suchen ist, ein Umstand, welcher auch die Erklärung für die Ueberlegenheit der rohen Karbolsäure über das reine Phenol gab, denn letzterem fehlen ja die Kresole. Behring (4) bestreitet zwar, daß die Kresole als solche stärker desinfizierend wirkende Körper seien als die reine Karbolsäure; dem stehen jedoch einwandsfreie Untersuchungen von Hammerl (5) gegenüber, durch welchen die Ueberlegenheit der drei isomeren Kresole und des Trikresols über das Phenol dargetan wird. Daß Metakresol einen erheblich höheren Desinfektionswert besitzt als das reine Phenol, zeigt auch Tabelle VI.

Seit Fraenkels Entdeckung hat man die verschiedensten Kresolpräparate in den Handel gebracht, welche sich durch mehr oder weniger große Reinheit des Gehaltes an Kresolen oder durch die Aufschließungsmittel, welche wegen der Schwerlöslichkeit der Kresole in Wasser zugesetzt werden müssen, unterscheiden. Die uns hier besonders interessierenden Kresolsaponate sind nach der Pharmacopoea germanica, editio IV, 1900, Mischungen von gleichen Teilen Rohkresol und Sapo kalinus. Letztere hat zwar auch gewisse desinfizierende Eigenschaften, sie treten

Tabelle
Desinf.-Lösung: 4 ccm, 0,25 Proz. Bakterien-

Minuten	Staphylococc.					
	I		II		III	
	Versuch a	Versuch b	Versuch a	Vers. b	Versuch a	Versuch b
15	+ vfl		+ 134 (152)		+ vfl	
30	+ u	+ 27	+ 7 (25)	+ 2	+ u	+ 54
45	+ 1040	+ 14	+ 1 (10)	0	+ 280 (812)	+ 71
70	+ 144	0	0	0	+ 234 (484)	+ 17
100	+ 32 (118)	0	0	0	+ 43 (80)	+ 13
140		1	0	0		+ 10
Bac.						
30	+ u	+ u	+ 171	0	+ u	+ u
60	+ s	+ "	0	0	+ "	+ "
90	+ s	+ "	0	0	+ d	+ 1908
120	+ d	+ "	0	0	+ "	+ 287
170	+ d		0		+ 47	
Streptococc.						
5		+ u		+ ü. 500		+ u
10		über 1000		2		u
15	+ 3	über 700	0	+ 2	+ 2000	+ u
30	17	43	0	0	400	700
45	13	3	0	0	+ 106	+ 134
60	+ 0	0	0	0	+ 40	40
90	+ 2	0	0	0	+ 32	4
120		0	0	0		2
140	0		0		+ 34	
Vibrio						
Desinf.-Lösung: a) 0,25 Proz., b) 0,1 Proz. Bakterien-						
5	+ 50	u	0	1200	+ über 500	u
10	+ 1	"	0	48	+ " 400	"
15	0	+ "	0		8	+ "
30	0	u	0	+ 67	14	+ u
45	0	+ "	0	+ 6	15	+ u
60	0	u	0		0	u
90	0	+ "	0	+ 0	0	+ "

u = für die Lupe unzählbar. s = sehr dicht. d = dicht.

jedoch, wie ich mich auch durch Versuche überzeugte, sehr hinter der Wirksamkeit der Kresole zurück. Es muß deshalb die Desinfektionskraft der Präparate wesentlich verändert werden, wenn infolge ungenauer Abmessungen bei der Herstellung des Liquor cresoli sap. das Mengenverhältnis von Kresol zur Seife nicht mehr den Vorschriften der Pharmakopöe entspricht. Bei einigen in dieser Richtung angestellten Versuchen, in welchen ich fertig bezogene Präparate von Liquor cres. sap. (II, IV, V) mit Präparaten (IIa, IVa, Va) verglich, welche ich selbst aus den entsprechenden, d. h. aus den gleichen Bezugsquellen entnommenen Rohkresolpräparaten, verfertigte, erhielt ich jedoch Resultate, welche auf eine richtige Zusammensetzung der Originalpräparate in dieser Beziehung schließen lassen (s. Tab. II).

Uebelmesser glaubt freilich im Gegensatze hierzu gerade auf die Verschiedenheit des Gehaltes der Kresolseifenlösungen an Rohkresol den Unterschied in der Desinfektionswirkung zurückführen zu müssen, doch gelangt er zu diesem Schlusse durch ein von ihm auch selbst als

I.

Bouillonkultur: 0,05 ccm. Bakterien-Desinficiensgemisch: 0,05 ccm.

pyog. aur.

IV		V		VI		Kontrolle	
Versuch a	Vers. b	Versuch a	Vers. b	Versuch a	Vers. b		
+ vfl		+ 260 (816)		+ 44 (140)		+ u	+ u
+ vfl	+ 566	+ 93 (181)	+ 3	+ 11 (22)	+ 14	+ "	+ "
+ 1120	+ 259	+ 62 (89)	0	+ 1 (7)	+ 4	+ "	+ "
+ 292	+ 97	0 (4)	0	0 1	+ 2	+ "	+ "
+ 115 (200)	+ 19	0	0	0 1	+ 3	+ "	+ "
	+ 4		0		0	+ "	+ "

typhi.

+ u	+ u	+ 65	+ 1060	+ d	+ 16	+ "	+ "
+ d	+ s	0	0	+ 67	+ 7	+ "	+ "
+ 51	+ 3040	0	0	0	0	+ "	+ "
+ 16	+ 1220	0	0	0	0	+ "	+ "
0		0		0		+ "	+ "

pyogen.

	+ u		+ 39		+ u	+ "	+ "
	113		1		188	+ "	+ "
+ 14	+ 8	0	0	+ 69	+ 13	+ "	+ "
11	0	0	0	3	3	+ "	+ "
0	0	0	0	0	0	+ "	+ "
0	0	0	0	0	0	+ "	+ "
0	0	0	0	0	0	+ "	+ "
0	0	0	0	0	0	+ "	+ "
0		0	0	0		+ "	+ "

choler. asiat.

Bouillonkultur 0,1 ccm. Bakterien-Desinficiensgemisch 0,1 ccm.

	u	5	u	65	u	+ "	+ "
+ 45	"	0	"	0	"	+ "	+ "
7	+ s	0	+ s	0	+ u	+ "	+ "
0		0	ca. 1000	0	+ 354	+ "	+ "
0	+ 700	0	+	0	+	+ "	+ "
0		0		0		+ "	+ "

+ = Trübung der Bouillon. 0 = Klarbleiben der Bouillon.

ungenau bezeichnetes, von Clessler angegebenes Verfahren. Nach Clessler setzt man im graduierten Reagenzröhrchen 10 ccm der Kresolseifenlösung 6 ccm Salzsäure zu; während die durch die Zerlegung der Seife freigewordenen Salze sich zu Boden setzen, scheiden sich die Fettsäuren und Kresole an der Oberfläche ab und können nach ihrem Volumen gemessen werden. Uebelmesser sieht zwar die so gewonnenen Resultate mit seinen bakteriologischen Versuchen übereinstimmen, die von mir dabei gefundenen Zahlen decken sich jedoch keineswegs mit meinen bakteriologischen Befunden. Dies ist nicht zu verwundern und es kann bei Uebelmesser nur ein rein zufälliges Uebereinstimmen der gefundenen Zahlen sein, denn es ist ja bei der Clesslerschen Methode nicht nur die Gesamtheit der bekanntermaßen desinfektorisch durchaus nicht gleichwertigen isomeren Kresole gemessen, sondern es werden neben den Fettsäuren auch noch die häufig als Verunreinigungen des Rohkresols vorkommenden, aber ganz anders als die Kresole zu bewertenden, höher und niedriger als diese siedenden Phe-

Tabelle II.

Desinf.-Lösung: 4 ccm, 0,25 Proz. Bakt.-Bouillonkultur 0,05 ccm. Bakt.-Desinfiziensgemisch 0,05 ccm.

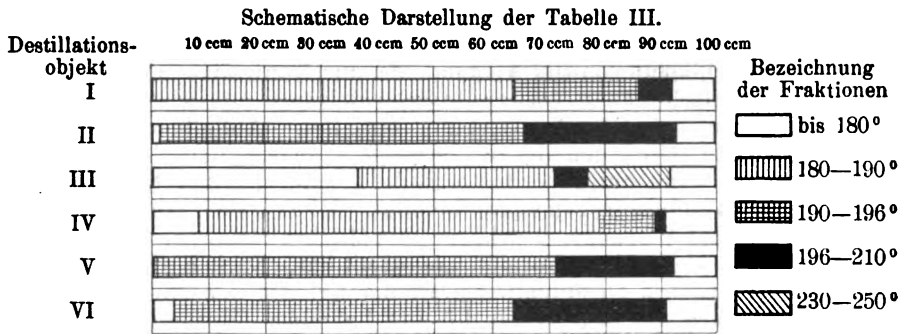
Mi- nuten	Bac. typhi.								
	Versuch a			Versuch b			Versuch c		
	II	IIa	C	IV	IVa	C	V	Va	C
5		unzählbar			unzählbar				
10	+	+	+	+	+	+	+	87	+
15	sehr dicht	über 1000	unzählbar	sehr dicht	über 1200	unzählbar	198	67	unzählbar
30	sehr dicht	über 1000	„	über 1200	„	„	0	0	„
45	+	+	+	+	+	+	0	0	„
60	über 1000	ca. 180	„	ca. 400	unzählbar	unzählbar	0	0	„
90	800	13	„	4	1	„	0	0	+
120	158	1	„	1	0	„	0	0	„

nole (Karbolsäure, Xylenole u. s. w.) mit in Rechnung gesetzt. Fischer und Koske (l. c. p. 615), welche mit einer anderen Methode einige Kresolseifenpräparate auf den vorgeschriebenen Gehalt an 50 Proz. Kresol prüften, ermittelten übrigens eine richtige Zusammensetzung in dieser Beziehung. Es müssen also die Unterschiede im Desinfektionswert in einer Ungleichheit der chemischen Zusammensetzung der Rohkresolpräparate begründet sein. Auch diese Präparate, welche mir ebenso wie die Präparate von Liquor cres. sap. von Herrn Prof. Jakob in liebenswürdigster Weise zur Verfügung gestellt wurden, zeigen in ihrem Aussehen bereits recht in die Augen springende Verschiedenheiten: I ist hellgelb, II dunkelrotbraun, III schwarzrotbraun, IV hellrotbraun, V hellgelb, VI hellgelb (aber heller als I) gefärbt. Alle Präparate sind klar und durchscheinend bis auf III, welches selbst in dünner Schicht ganz undurchsichtig ist. Durch fraktionierte Destillation versuchte ich mir einen Einblick in die Zusammensetzung der verschiedenen Präparate zu verschaffen. Bei der Destillation von je 100 ccm der Präparate erhielt ich folgendes Ergebnis:

Tabelle III.

Bezugsquelle des Cresolum crudum	Fraktionen in ccm					Rück- stand
	1.	2. (180—196°)		3.	4.	
	bis 180°	180— 190°	190— 196°	196— 210°	210— 250°	
I. Rump & Lehnert	—	66,5	21,8	5,5	—	gering
II. Merck	1,5	—	66	26	—	„
III. Hofapotheke Mün- chen (Raschig)	37	35	—	5	16	reichlich
IV. Hofapotheke Stutt- gart (Raschig)	9	70	10	1,7	—	„
V. Hofapotheke Dresden (Gehe & Co.)	0,5	0	71,5	21	—	gering
VI. Kahlbaum	4	0	62	26	—	„

In II, V und VI sind also die bei 196—210° übergehenden Fraktionen in erheblich reichlicherer Menge vorhanden als bei I, III, IV, welchen sie fast ganz fehlen. Bei I und IV wiegen die zwischen 180°



und 196° gewonnenen Fraktionen über, welche aber auch bei II, V, VI in großer Menge vorhanden sind. Bei III sind bereits unter 180° sehr reichlich Destillationsprodukte übergegangen und auch noch Bestandteile (16 ccm) gefunden worden, welche über 210° sieden. III und IV hinterlassen einen reichlichen, schwarzbraunen, teerartigen Rückstand, während bei den übrigen Präparaten nur ganz geringe Mengen zurückbleiben. Die Siedepunkte der drei isomeren Kresole liegen bekanntlich für Orthokresol bei 185—186°, für Parakresol bei 199°, für Metakresol bei 201°. Mithin enthalten wahrscheinlich II, V und VI verhältnismäßig große Mengen von Para- und Metakresol, welche I, III und IV fehlen. Nach Fraenkel (l. c.) übertrifft aber die keimtötende Kraft gerade dieser Kresolhomologen die des Orthokresols beträchtlich. Hierdurch wird der höhere Desinfektionswert dieser drei Präparate verständlich. Eine scharfe Trennung der drei homologen Kresole durch fraktionierte Destillation ist übrigens nicht ausführbar, da die Siedepunkte der einzelnen Isomeren zu nahe beieinander liegen. Ihre Reindarstellung durch fraktionierte Destillation ist deshalb auch unmöglich; sie werden bekanntlich durch Diazotierung aus den entsprechenden isomeren Amidotoluolen gewonnen. Die von mir vorgenommene Trennung ist auch mehr oder weniger künstlich, da wenigstens bei einem Teile der Präparate die Destillation an den von mir gemachten Unterbrechungen keineswegs sistierte; es war sehr schwierig, bei der Trennung an bestimmten Temperaturen festzuhalten, da die Temperatur oft gerade bei der angenommenen Grenze nicht verweilte, sondern Schwankungen von 2 bis 3 Graden zeigte und zuweilen sehr rasch darüber hinausstieg. Wenn auch die gefundenen Resultate deshalb selbstverständlich keinen Anspruch auf sehr große Genauigkeit erheben können, so sind die Unterschiede doch so deutlich und groß, daß die geschilderten Fehlerquellen den Wert der Resultate nicht wesentlich beeinträchtigen können. Um nun aber bei meiner Annahme, daß die zwischen 196° und 210° gewonnenen Fraktionen im wesentlichen aus den innerhalb dieser Temperaturgrenzen siedenden desinfektorisch hochwertigen Meta- und Paraverbindungen des Kresols bestehen, während die übrigen Fraktionen besonders reich an minderwertigen Bestandteilen sind, mich vor einem Trugschlusse zu sichern, verglich ich noch in einigen Versuchen die keimtötende Kraft der verschiedenen Fraktionen miteinander. Die zur Herstellung wässriger Lösungen nötige Aufschließung der in Wasser nur schwer löslichen Fraktionen versuchte ich zunächst mit reiner konzentrierter Schwefelsäure. Diese setzte ich dem Kresol zu gleichen Teilen nach Fraenkel's Vorgang unter Kühlung zu, damit Kresol und Schwefelsäure keine

Verbindung untereinander eingehen, sondern als Gemenge frei nebeneinander bestehen. Ich nahm jedoch von dem Zusatze der Schwefelsäure als Aufschließungsmittel Abstand, da mir Kontrollversuche zeigten, daß die zur Aufschließung verwandte Schwefelsäure an sich bereits eine sehr erhebliche keimtötende Wirkung entfaltet. Auffallend war dies, weil Fraenkel (l. c.) den desinfizierenden Eigenschaften der Schwefelsäure nur eine ganz untergeordnete Rolle bei der Desinfektionswirkung des Kresol-Schwefelsäuregemenges beimißt. Fraenkel stützt sich dabei wohl nur auf Versuche, welche er mit Milzbrandsporen, anscheinend aber nicht mit vegetativen Formen angestellt hat. Nach Behring (l. c.) kommt diese erhöhte Desinfektionskraft der Kresole denselben aber nur zu, wenn sie sich in stark saurer Lösung befinden. Bezüglich der bakteriziden Wirkung von Säuren stellte Behring fest, daß in einem Serum mit 40 ccm Normalsäure pro Liter Milzbrandbacillen sich nicht mehr vermehren können. Zu Grunde liegen dieser Behauptung Behrings Untersuchungen, welche unter seiner Leitung durch v. Lingelsheim angestellt und 1890 veröffentlicht worden sind (6). Diese Versuche lassen jedoch ebensowenig wie diejenigen Kitasatos (7) und Boers einen genauen Vergleich mit den von mir erhaltenen Ergebnissen zu, da die Schwefelsäure nicht in ihrer direkten Wirkung auf die Bakterien geprüft ist, sondern, um mehr den praktischen Verhältnissen Rechnung zu tragen, in mit Schwefelsäure angesäuerten Nährböden (Nährbouillon, Blutserum). Nach den Versuchen von Stutzer (9), welcher wässrige Lösungen von Schwefelsäure auf Cholerabakterien einwirken läßt, werden diese durch eine 0,05-proz. Lösung bereits in $\frac{1}{4}$ Stunde abgetötet. In Fischer und Koskes Versuchen mit 1-proz. Lösung von Schwefelsäure wird die Abtötung von Staphylokokken in dicker Schicht in $5\frac{1}{2}$ bis 6 Minuten erreicht. Mehrere in der Anordnung den bisherigen analoge Versuche, welche ich mit 0,1- und 0,2-proz. wässrigen Lösungen von konzentrierter Schwefelsäure anstellte, zeigten, daß Typhusbacillen schon nach einem Aufenthalte von 4 Minuten in diesen Lösungen nicht mehr entwicklungsfähig sind. Der folgende Versuch (Tabelle IV), in welchem 0,25-proz. Lösungen von konzentrierter Schwefelsäure und Liq. cres. sap. IV auf ihr Verhalten zu Typhusbacillen geprüft werden, beweist die Ueberlegenheit der Schwefelsäure gegenüber gleichprozentigen Lösungen von Liquor cresoli saponatus.

Tabelle IV.

Desinf.-Lösg.: 4 ccm, 0,25 Proz. Bakt.-Bouillonkultur:
0,05 ccm. Bakt.-Desinficiensgemisch: 0,05 ccm.

Bac. typhi			
Minuten	Schwefelsäure	Liq. cres. sap. IV	C
5	0	0	unzählbar
10		+	+
15		0 sehr dicht	unzählbar
30		0 über 1200	"
45		+	+
60		0 ca. 400	unzählbar
90		0 2 (4)	"
120		0 0 (1)	"

In den auf Tabelle V dargestellten Versuchen findet Staphylokokken gegenüber ein Vergleich statt zwischen 0,1-proz. Schwefelsäure einerseits

und gleichprozentigem, mit 0,1-proz. Schwefelsäure resp. 0,01-proz. Sapo kalinus aufgeschlossenen Para- und Orthokresol andererseits. Auch hier erweist sich die Schwefelsäure dem durch Seife aufgeschlossenen Ortho- und Parakresol weit überlegen.

Tabelle V.

Desinfektionslösung: 4 ccm, 0,1 Proz. Bakterien-Bouillonkultur: 0,1 ccm.
Bakterien-Desinficiensgemisch: 0,1 ccm.

Staphylococc. pyog. aur.						
Minuten	Parakresol		Orthokresol		Schwefel- säure	C
	+ H ₂ SO ₄ 0,1 Proz.	+ Sap. kal. 0,01 Proz.	+ H ₂ SO ₄ 0,1 Proz.	+ Sap. kal. 0,01 Proz.		
5	2 (5)	vfl	0	vfl	0 (8)	unzählbar
10	0	unzählbar	0	unzählbar	0	vfl
15	0	"	0	"	0	"
30	0	sehr " dicht	0	"	0	"
45	0	ca. 1500	0	ca. 2000	0	"
60	0	" 1200	0	" 1000	0	"
90	0	" 800	0	" 400	0	"
120	0	" 600	0	" 300	0	"
180	0	" 300	0	0	0	"

Aus dem Versuche in Tabelle VI ist zu folgern, daß eine 0,1-proz. Lösung von konzentrierter Schwefelsäure gleichprozentige wässrige Lösungen der reinen Kresole (von Kahlbaum bezogen), der reinen und rohen Karbolsäure und verschiedener Fraktionen, welche ich aus Cresol. crud. II bei Temperaturen von 180–196° und 196–210° gewonnen hatte, erheblich an Desinfektionskraft übertrifft.

Tabelle VI.

Desinfektionslösung: 5 ccm, 0,1 Proz. Bakterien-Bouillonkultur: 0,1 ccm.
Bakterien-Desinficiensgemisch: 0,1 ccm.

Staphylococc. pyog. aur.									
Mi- nuten	Kresol			Cres. crud., Frakt.		Schwefel- säure	Karbolsäure		C
	m.	p.	o.	II ₂ 180–196°	II ₃ 196–210°		reine	rohe	
2	u	u	u	u	u	0 (d)	u	u	u
5	s	u	u	u	u	0 (2)	u	u	u
10	s	u	u	u	u	0	u	u	u
15	+	+ u	+ u	+ u	+ u	0	+ u	+ u	+ u
30	d	u	u	u	u	0	u	u	u
45	d	u	u	u	u	0	u	u	u
60	+ 0 (ca. 2000)	+ u	+ u	+ u	+ u	0	+ u	+ u	+ u
90	0 (ca. 8–900)	u	u	u	u	0	u	u	u
120	0 (+) 0 (2–300)	+ u	+ u	+ u	+ u	0	+ u	+ u	+ u
180	0 (67)	u	u	u	u	0	u	u	u
240	0 (40)	u	u	u	u	0	u	u	u

Es geht aus alledem hervor, daß bei der keimtötenden Wirkung eines Kresol-Schwefelsäuregemenges der Schwefelsäure keine untergeordnete Rolle zugesprochen werden darf. Um Unsicherheiten in dieser Hinsicht aus dem Wege zu gehen, benutzte ich zur Aufschließung Sapo kalinus, welche ich den Lösungen in einer Menge von 40 Proz. des Kresolgehaltes zusetzte.

Die Kresolfractionen wurden in 0,2-proz. Lösungen Staphylokokken gegenüber geprüft. Typhusbacillen wurden von 0,2-proz. Lösungen bereits in so kurzer Zeit abgetötet, daß die Versuche nicht zu verwerten waren. Zu den Testlösungen verwandte ich die Fractionen II₁ (bis 180°), II₂ (180—196°), II₃ (196—210°) und IV₁ (bis 180°), IV₂ (180 bis 196°), IV₃ (196—210°).

Tabelle VII.

Desinfektionslösung: 5 ccm, 0,2 Proz. (+ 0,1 Proz. Seife). Bakterienbouillonkultur: 0,1 ccm. Bakterien-Desinficiensgemisch: 0,1 ccm.

Staphylococc. pyog. aur.

	Mi- nuten	Fractionen von Cresol. crud. II und IV						C
		II, bis 180°	II, 180—196°	II ₃ , 196—210°	IV, bis 180°	IV ₂ , 180—196°	IV ₃ , 196—210°	
A	5	unzählbar		über 2000	unzählbar		unzählbar	unzählb.
	15	über „		213	„		über 2000	„
	30	5000		83	„		800	„
	45	ca. 3000		18	ca. 5000		500	„
	60	2000		4	„ 4000		320	„
	90	1000		1	„ 3000		132	„
	120	300		0	1200—1300		89	„
B	15	u	u	264	u	u	u	u
	30	u	u	45 (71)	u	u	ca. 2000	u
	60	s	s	1 (19)	u	u	400	u
	90	über 3000		0 (13)	u	u	63 (140)	u
	120	ca. 1800		0	ca. 5000		37 (74)	u

Es geht aus diesen Versuchen klar hervor, daß zwischen den Fractionen, welche bei 196—210°, und solchen, welche unter dieser Temperatur gewonnen sind, in der Tat erhebliche Unterschiede bezüglich ihrer Desinfektionskraft bestehen und zwar zu Gunsten der ersteren. Mit dem Ausfall dieser Versuche gewinnt meine Annahme Berechtigung, daß die bei 196—210° übergegangenen Fractionen im wesentlichen Meta- und Parakresol enthalten, die bei 180—196°, sowie unter 180° und über 210° gewonnenen Fractionen aber vorzugsweise aus Orthokresol bezw. anderen desinfektorisch minderwertigen Bestandteilen sich zusammensetzen. Somit ist auch der Schluß gestattet, daß die verschiedene Desinfektionskraft der untersuchten Kresolpräparate im wesentlichen auf Unterschiede im Gehalte an den drei isomeren Kresolen zurückzuführen ist; bei den stärker wirksamen Präparaten (II, V, VI) überwiegen die Meta- und Paraverbindungen, während bei den schwächer wirksamen (I, III, IV) die Orthoverbindung neben anderweitigen Verunreinigungen im Vordergrund steht.

In Uebereinstimmung hiermit stehen auch die Untersuchungen von Fischer und Koske, welche bei Prüfung dreier verschiedener Präparate von Cresol. crud. zu dem Ergebnis kamen, daß die desinfizierende Wirkung derselben unter sich nicht gleich ist; der Arzneibuchprobe entsprach eine Anzahl der von ihnen untersuchten Rohkresole nicht; den Gehalt an m-Kresol, welchen sie (l. c. p. 595) nach der Raschigschen Methode (Berechnung nach dem beim Behandeln mit einem Ueberschuß von Salpetersäure in der Siedehitze aus dem m-Kresol entstehenden Trinitro-m-Kresol) ermittelten, fanden sie innerhalb weiter Grenzen von 20,2—38,5 Proz. schwankend.

Liquor cres. sap. des deutschen Arzneibuches ist also kein Präparat von gleichmäßiger chemischer Zusammensetzung und steter zuverlässiger Wirkungsweise. Es ist zu befürchten, daß das mehr oder weniger auch für andere Kresolpräparate, in denen das Kresol durch Seife oder andere Mittel aufgeschlossen ist, gilt. Denn die Ursache liegt ja in einer Ungleichheit der chemischen Zusammensetzung, der Grundsubstanz, des Rohkresols. Da außerdem, wie auch wieder die neueren, oben angeführten Untersuchungen im Göttinger pharmakologischen Institute ergeben haben, Kresolpräparate sich keineswegs indifferent dem höheren Organismus gegenüber verhalten, so sind sie besonders für Laienhand (Hebammen, Desinfektoren u. s. w.), für die sie ja gerade bestimmt sind, ganz ungeeignete Desinfektionsmittel. Sollten sich nicht Mittel und Wege finden lassen, welche eine Gewähr für die Gleichmäßigkeit der chemischen Zusammensetzung des zu ihrer Darstellung erforderlichen Cres. crud. bieten, so ist auf Ersatz durch ein für den Laien passenderes Desinficiens zu sinnen. Vielleicht könnte die Schwefelsäure, welche, wie wir sahen, schon in äußerst geringen Konzentrationen recht energisch desinfizierend wirkt, in schwachen Konzentrationen aber relativ indifferent ist und sich nebenbei auch durch Billigkeit auszeichnet, dazu berufen sein.

Zum Schlusse ist es mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Chef, Herrn Prof. v. Esmarch, für die Anregung zu der vorstehenden Arbeit und die in lebenswürdigster Weise erteilten Ratschläge verbindlichsten Dank zu sagen. Auch Herrn Prof. Jacoby verfehle ich nicht für die gütige Ueberlassung der Präparate bestens zu danken.

Literatur.

- 1) Koch, R., Ueber Desinfektion. (Mitteil. a. d. kais. Ges.-A. Bd. I. 1881.)
- 2) Krönig u. Paul, Die chemischen Grundlagen der Lehre von der Desinfektion. (Ztschr. f. Hyg. Bd. XXV. 1897.)
- 3) Fraenkel, C., Die desinfizierenden Eigenschaften der Kresole, ein Beitrag zur Desinfektionsfrage. (Ztschr. f. Hyg. Bd. VI. 1889.)
- 4) Behring, Bekämpfung der Infektionskrankheiten. Infektion und Desinfektion. Leipzig 1894.
- 5) Hammerl, Ueber die bakterizide Fähigkeit und Giftigkeit der 3 isomeren Kresole und des Phenols. (Hyg. Rundsch. 1899. No. 20.)
- 6) v. Lingelsheim, Beiträge zur Aetiologie des Milzbrandes. (Ztschr. f. Hygiene. Bd. VIII. 1890.)
- 7) Kitasato, Ueber das Verhalten der Typhus- und Cholera bacillen zu säure- und alkalihaltigen Nährböden. (Ztschr. f. Hygiene. Bd. III. 1888.)
- 8) Boser, Ueber die Leistungsfähigkeit mehrerer chemischer Desinfektionsmittel bei einigen für den Menschen pathogenen Bakterien. (Ztschr. f. Hygiene. Bd. IX. 1890.)
- 9) Stützer, Versuche über die Einwirkung sehr stark verdünnter Schwefelsäure auf Wasserleitungsröhren zur Vernichtung von Cholera bakterien. (Ztschr. f. Hygiene. Bd. XIV. 1893.)
- 10) Fischer u. Koske, Arb. a. d. kais. Ges.-A. Bd. XIX. 1903.)
- 11) Uebelmesser, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXVII. 1904. Heft 3.)

Nachdruck verboten.

Die Gärungsprobe bei 46° als Hilfsmittel bei der Trinkwasseruntersuchung.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Utrecht.]

Von Prof. Dr. C. Eijkman.

In der Erwägung, daß die Ansteckungsgefahr durch den Gebrauch unreinen Trinkwassers namentlich für Darmkrankheiten, wie Cholera, Typhus und Dysenterie gilt, wobei das Wasser durch menschliche Exkremente infiziert wird, hat man auf bakteriologischem Wege eine etwa stattgefundene fäkale Verunreinigung nachzuweisen versucht. Dabei hat man besonders *Bacillus coli communis* als Indikator ins Auge gefaßt. Wenn das Vorkommen dieses Mikroorganismus mit Bestimmtheit bewiese, daß das Wasser durch Fäkalien verunreinigt wäre, so würde damit eine sehr wichtige Anweisung gegeben sein. Wenn auch solches Wasser nicht immer gesundheitsschädlich zu sein braucht, so ist es doch als gefährlich zu erachten, denn die Art der Verunreinigung, der das Wasser ausgesetzt ist, bietet zugleich die Möglichkeit, die Gefahr, der Infizierung. Wo die normalen Darmbewohner hinkommen, dahin werden in Zeiten ansteckender Krankheiten auch die Typhus-, Cholera-bakterien u. s. w. gelangen können. Dabei wird dann noch von der Frage abgesehen, ob nicht unter Umständen auch die *Coli*-Bacillen selber oder ihnen nah verwandte Arten, die im Wasser vorkommen, für den Konsumenten schädlich sein können, eine Frage, welche nicht unwahrscheinlich bejaht werden muß.

Indes sind die Ansichten über den Wert von *Bac. coli* als Indikator fäkaler Verunreinigung geteilt. Nach einigen ist dieser Wert sehr gering; sie behaupten auf Grund ihrer Untersuchungen, daß *Coli*-Bacillen so allgemein in der Natur verbreitet vorkommen, daß ihre Anwesenheit im Wasser nichts für Verunreinigung beweist.

Sogar im reinsten Wasser sollen sie regelmäßig vorhanden sein. Andere geben zwar zu, daß *Coli*-Bacillen in großer Anzahl nur in verunreinigten Wässern angetroffen werden und daß umgekehrt reine Wässer nicht selten frei davon sind, allein dazwischen liegen nach ihnen eine Reihe von Fällen, wobei *Coli*-Bacillen, wenn auch in geringer Zahl, gefunden wurden, ohne daß ein Grund wäre, das Wasser als verdächtig zu betrachten.

Ersterer Ansicht sind Kruse¹⁾ und Weissenfeld²⁾, nach welchem letztern man buchstäblich in allen Wasserproben *Coli*-Bacillen finden kann, wenn man nur c. q. ein großes Wasserquantum der Untersuchung unterzieht (bis 1 l!). Auch Miquel ist dieser Meinung.

Ein Anhänger der andern Ansicht ist Freudenreich³⁾, der fand, daß gänzliche Abwesenheit von *Coli*-Bacillen tatsächlich bei sehr gutem Trinkwasser vorkommt, während unreines Wasser daran sehr reich ist. Er gibt aber zu, daß ihre Anwesenheit in geringer Anzahl nicht ohne weiteres gegen die Brauchbarkeit des Wassers spricht. So fand er sie z. B. in Wasser aus einer 6 m tief gefaßten Quelle, welches übr-

1) Zeitschr. f. Hyg. und Infektionskrankh. Bd. XVII. p. 53.

2) Ebenda. Bd. XXXV. p. 80.

3) Centralbl. f. Bakt. u. Parasitenk. Abt. I. Bd. XVIII. p. 104.

gens chemisch und bakteriologisch sehr rein war; jedoch nur, wenn er mindestens 100 ccm dieses Wassers verarbeitete. Dazu mischte er es mit Milchzucker-Bouillon und brütete die Mischung bei 35°. Sind Coli-Bakterien vorhanden, so tritt nach 12–24 Stunden kräftige Gärung auf, während nach ihm die gewöhnlichen Wasserbakterien und auch Fäulnisorganismen, wie *Proteus vulgaris*, Milchzucker nicht vergären.

Auch Houston¹⁾ verneint aufs entschiedenste das allenthalben reichliche Vorkommen des Coli-Bacillus in der Natur. An und für sich möge derselbe vielleicht kein Indikator fäkaler Verunreinigung sein, aber wohl, wenn er in großer Anzahl anwesend ist. Während er für gewöhnlich in $\frac{1}{10000}$ bis $\frac{1}{100000}$ ccm Kanalwasser noch nachzuweisen sei, fehle er in 10–100 ccm reinem Wasser. Als eine einfache Probe, fäkale Verunreinigung nachzuweisen, gibt Houston an, das Wasser in Röhrchen mit geschmolzener Nährgelatine zu mischen (wozu noch Glykose gefügt werden kann) und während 24 Stunden bei 20° zu stellen, nachdem man durch Abkühlung die Gelatine hat erstarren lassen.

Wenn Coli-Bacillen, Bakterien, zur Proteusgruppe gehörend, und dergleichen, den Abfallwässern eigene Mikroorganismen anwesend sind, so verrät sich das durch die Entwicklung von Gasblasen in der Gelatine. Falls das Wasser rein ist, kann man z. B. 100 ccm davon über eine Anzahl Kulturröhrchen verteilen, ohne daß in einem von diesen sichtbare Gasbildung auftritt.

Houston gibt Gelatine bei 20° den Vorzug vor Agar bei 37°, um auch die gasbildenden Mikroben, welche bei Blutwärme nicht wachsen wollen, bei der Untersuchung berücksichtigen zu können. Auf diesen Punkt kommen wir gleich ausführlicher zurück.

Neulich haben auch Petruschky und Pusch²⁾ ein kräftiges Wort für den Wert des *Bacillus coli* als Indikator fäkaler Verunreinigung des Wassers eingelegt. Sie geben ein Anreicherungsverfahren an, welches darin besteht, daß das Wasser, mit einer gleichen Menge (z. B. 100 ccm) Peptonbouillon vermischt bei 37° gebrütet wird. Bleibt die Mischung klar, so ist das bereits ein gutes Zeichen. Wird sie trübe, so kann man weiter mit Hilfe der Plattenkultur versuchen, *Bacillus coli* zu isolieren. Indem man eine Anzahl Versuche mit zunehmenden Quantitäten des zu untersuchenden Wassers macht, kann man annähernd auch ein Urteil über die Zahl der im Wasser vorhandenen Coli-Bacillen gewinnen.

Auch Petruschky fand nun die „Ubiquität“ von *Bacillus coli* durchaus nicht bestätigt. In einigen sehr reinen Brunnenwässern konnte derselbe sogar in einer Menge von $\frac{3}{4}$ l nicht nachgewiesen werden, in ziemlich reinen Wässern erst in einer Quantität von 100, 10 bzw. 1 ccm, in unreinen Wässern hingegen, z. B. in offenen Wasserläufen, schon in Quantitäten von $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{1000000}$ ccm.

Man sieht, bei aller Meinungsverschiedenheit über den symptomatischen Wert des Vorkommens von *Bacillus coli* in Wasser, sind die verschiedenen Untersucher doch ziemlich einig über die Tatsachen. Denn, während z. B. ein Anhänger der Ubiquität, wie Weißenfeld, anerkennt, daß es bei reinem Wasser nötig sein kann, ein Liter zu unter-

1) 2nd Report of the Royal Comm. on sewage disposal, p. 25 u. 135. (Wyman & Sons. London 1902.)

2) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskr. Bd. XLIII. p. 304.

suchen, um *Bacillus coli* aufzufinden — was für die Praxis der Untersuchung ziemlich darauf hinausläuft, daß dieser abwesend ist — geben andererseits die Gegner zu, daß er doch auch in verhältnismäßig reinen Wassersorten noch vorkommen kann.

Ich habe mir nun die auch schon von Kruse u. A. aufgeworfene Frage gestellt, ob die weite Verbreitung der Coli-Bacillen in der Natur nicht nur eine scheinbare sei und dem Umstande zuzuschreiben wäre, daß man unter diesem Namen nicht eine einzelne, sondern eine Gruppe von Arten zusammenfaßt. Sind darunter nicht viele coliähnliche, die ebenso wie viele der choleraähnlichen und typhusähnlichen Mikroben, welche die fortschreitende Wissenschaft im Verlaufe der Zeit hat kennen lernen, weder direkt noch indirekt aus dem Darne stammen? Dürfte diese Vermutung richtig sein, so wäre es von großem praktischen Wert, wenn ein einfaches Mittel zu finden wäre, wodurch die echten Coli-Bacillen, diejenigen, welche kraft ihres Ursprungs diesen Namen mit Recht führen, von ihren Doppelgängern unterschieden werden könnten. Wo von einer einfachen Methode die Rede ist, bleibt die Anwendung eines spezifisch agglutinierenden oder bakteriolytischen Serums, welches z. B. bei der Diagnose des Typhusbacillus und des Cholera vibrio nicht entbehrt werden kann, von selbst ausgeschlossen. Wir glaubten daher, daß es des Versuchs wert sei, für die in Frage stehende Trennung die Eigenschaft der Coli-Bacillen strictu sensu, daß sie noch bei 46° C gut zu kultivieren sind, zu benutzen und darauf ein Anreicherungsverfahren zu gründen. Wenn schon bei 37° viele eigentliche Wasserbakterien nicht mehr zur Entwicklung gelangen (Petruschky), so steht zu erwarten, daß bei 46° der Zweck, deren Vermehrung hintanzuhalten, noch besser erreicht wird. Schon Rodet¹⁾ hat darauf hingewiesen und eine Bruttemperatur von 44,5 bis 45° empfohlen, um *Bacillus typhi* in Wasser überhand nehmen zu lassen und dadurch leichter aufzufinden. Merkwürdigerweise jedoch übersieht er, daß *Bacillus coli* in noch höherem Maße „thermotolerant“ ist, so daß bei dessen gleichzeitiger Anwesenheit die Befolgung seiner Vorschrift wenig Erfolg verspricht.

Wie gesagt, uns war es gerade um die Coli-Bacillen zu tun und im Gegensatz zu Houston, der die Kultur bei 20° empfiehlt, um ja nicht diejenigen Gasbildner auszuschließen, die sich bei Brutwärme etwa nicht züchten lassen würden, wollten wir gerade eine hohe Temperatur benutzen, um die wahren Vertreter der genannten Bakterienart möglichst ausschließlich zur Entwicklung zu bringen.

Zur Auffindung der Coli-Bacillen wurde bei den ersten, zur Orientierung dienenden Versuchen von diesen seinen beiden Eigenschaften Gebrauch gemacht: 1) Traubenzucker zu vergären (unter Säurebildung); 2) in peptonhaltenden Nährflüssigkeiten Indol zu bilden.

Für die Gärungsprobe wurde das zu untersuchende Wasser in einem Gärungskolben mit ungefähr $\frac{1}{8}$ seines Volums einer sterilen wässerigen Lösung von 10 Proz. Glykose, 10 Proz. Pepton, 5 Proz. NaCl vermischt.

Da die Indolbildung bei der Anwesenheit von Glykose unterbleibt, wurde dazu ein zweiter Versuch gemacht, insofern vom ersten abweichend, daß der Traubenzucker weggelassen und ein gewöhnlicher Kolben statt eines Gärungskolbens benutzt wurde.

1) Compt. rend. Acad. soc. de biologie. Ref. in Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VI. p. 500.

Schon bald stellte sich inzwischen heraus, daß die Gärungskolben allein schon genügten, was natürlich eine erwünschte Vereinfachung ergab. Bei Anwesenheit des *Bacillus coli* gewinnt dieser im Gärungskolben bei 46° sehr bald die Oberhand über die anderen Mikroben, so daß er für gewöhnlich schon innerhalb 24 Stunden in Reinkultur oder wenigstens in überwiegender Mehrheit angetroffen wird, indem er deutliche Gärung und eine diffuse Trübung der Flüssigkeit, sowohl im offenen wie im geschlossenen Schenkel, verursacht. Die Indolreaktion ist weniger kennzeichnend für *Coli*-Bacillen und kommt allgemeiner auch bei anderen Bakterien vor als Gärung, außerdem ist sie manchmal erst später, z. B. erst nach 2mal 24 Stunden, nachzuweisen.

Für die Untersuchung wurde eine Anzahl Wasserproben benutzt, deren Ursprung und Grad der Reinheit sowohl in chemischer wie in bakteriologischer Hinsicht bekannt war und uns erlaubte, von vornherein zu beurteilen, ob fäkale Verunreinigung in höherem oder geringerem Maße angenommen werden mußte oder als ganz ausgeschlossen zu betrachten war.

So konnte also die Methode geprüft und außerdem noch durch Parallelversuche bei 37° entschieden werden, ob eine Bruttemperatur von 46° zum besagten Zweck in der Tat vor der ersterwähnten den Vorzug verdiente.

Es waren nun die Ergebnisse der bei 46° angestellten Versuche in jeder Hinsicht ermutigend.

Was an erster Stelle die unverdächtigen Wassersorten betrifft, bei denen fäkale Verunreinigung als durchaus ausgeschlossen zu betrachten war, von diesen wurden zehn dem Versuche unterzogen. Manche wurden wiederholt im Sommer und im Winter und auch in großer Menge (z. B. 300 ccm) untersucht; in keinem einzigen Falle wurde Gärung wahrgenommen.

Ist das Wasser bakteriologisch sehr rein, so unterbleibt nicht nur jede Gasbildung¹⁾, sondern die Flüssigkeit ist auch nach 24 Stunden noch vollständig klar, um höchstens nach etwa 2mal 24 Stunden nur im offenen Schenkel und dem daran grenzenden Teile des geschlossenen Schenkels eine leichte Trübung zu zeigen. So ist es z. B. mit dem Wasser der Utrechter Wasserleitung, welche ihre Prise d'eau auf der öden Soester Heide hat, woher sie das Wasser durch tiefe Röhrenbrunnen entnimmt. Dieses Wasser ist chemisch außerordentlich rein und enthält auch, so wie es in der Stadt verteilt wird, nur sehr wenig Bakterien (in der Plattenkultur 20–40 Kolonien per Kubikcentimeter). Ähnlich waren die Ergebnisse mit dem (eisenhaltigen) Wasser aus ein paar Nortonbrunnen in Utrecht, der eine auf dem Terrain meines Laboratoriums, 6 m tief, der andere auf dem des Gemeindeschlachthauses und 18 m tief, beide mit einer nach oben hin abschließenden, wasserkehrenden Lehmschicht. Des weiteren mit dem Wasser aus einem 84 m tiefen Röhrenbrunnen in Bergendael (in der Nähe von Nijmegen), oben mit einem 60 m tiefen Behälter versehen. Auch das Wasser der Wasserleitungen in Alfen (Provinz Süd-Holland), Arnheim, Maastricht und Tiel, das durch Röhren oder Schächte in einer Tiefe von 20–50 m aus dem

1) Natürlich abgesehen von der Luftblase, die sich oben im geschlossenen Schenkel bildet und von ursprünglich im Wasser gelöster Luft herrührt. Um sich von der Quantität derselben zu vergewissern, kann man einen Parallelversuch machen mit dem Wasser allein in einem Gärungskolben, also ohne Hinzufügung von Glykose u. s. w., oder man kann auch die Luftblase entfernen, bevor Gärung eingetreten ist.

Boden gesammelt wird, gab nicht nur kein Gas, sondern sogar keine Trübung im geschlossenen Schenkel des Gärungskolbens. In all diesen Fällen war das Wasser nicht nur frei von thermotoleranten Gärungserregern, sondern überhaupt arm an Keimen. In anderen Fällen, wo das Wasser reicher an Keimen, aber doch unverdächtigen Ursprungs war, wurde die Flüssigkeit wohl diffus trübe, Gärung aber fand nicht statt. Dies gilt z. B. für das Amsterdamer und das Haager Dünenwasser. Der verhältnismäßige Reichtum dieses Wassers an Bakterienarten ist wohl dem Umstande zuzuschreiben, daß es, bevor es in die Leitung gepumpt wird, ziemlich lange an der Oberfläche verweilt.

Ganz anders als Wasser unverdächtigen Ursprungs betrogen sich hinsichtlich des Gärungsversuchs bei 46° diejenigen Wassersorten, bei denen von vornherein angenommen werden mußte, daß sie fäkalen Verunreinigung ausgesetzt sind. Als solche sind z. B. das Flußwasser in bevölkerten Gegenden und das Stadtgrabenwasser zu betrachten. Untersucht wurde das Grabenwasser von Amsterdam, Haag, Utrecht und das Wasser der Flüsse Maas oberhalb Rotterdam, Rhein bei Arnheim, Waal bei Tiel, Vecht bei Weesp, die Holländische Ysel oberhalb Gouda, die Mark bei Ginneken (oberhalb Breda). Ohne Ausnahme zeigen sie im Gärungskolben nicht nur Bakterienwachstum in Form einer diffusen Trübung, sondern auch Gasbildung. Kleine Wassermengen, Fraktionen von 1 ccm, sind dazu oft schon genügend; in diesem Falle macht man den Versuch so, daß ein Gärungskölbchen von 5–10 ccm Inhalt mit einer ungefähr 1 Proz. Glykose enthaltenden Nährflüssigkeit gefüllt und mit einer kleinen Menge des zu untersuchenden Wassers geimpft wird.

Von dem verhältnismäßig ziemlich reinen Grabenwasser der Stadt Utrecht genügt eine Menge von $\frac{1}{100}$ ccm, um regelmäßig bei 46° Gärung zu verursachen; bei kleineren Quantitäten kann die Gärung und sogar das durch Trübung sich verratende Bakterienwachstum unterbleiben. Impft man z. B. 3 Kölbchen, jedes mittelst einer Platinöse von ca. 3 mg Inhalt, so kommt es vor, daß in einem der Kölbchen Gärung auftritt, in den anderen nicht; von letzteren kann dann das eine trübe geworden sein, das andere ganz oder wenigstens im geschlossenen Schenkel klar bleiben.

Von Flußwasser waren für gewöhnlich größere Quantitäten, ca. 0,2 bis 5 ccm, nötig, um noch sicher Gärung zu bewirken.

Flußwasser wird noch viel getrunken und eine Anzahl Orte hat in Ermangelung eines bessern den benachbarten Fluß als *Prise d'eau* für ihre Wasserleitung nehmen müssen. Gewöhnlich wird dann das Wasser im großen mittels Sedimentierbecken und Sandfilter gereinigt. Aus Untersuchungen über die Wirkung von Sandfiltern ist hervorgegangen, daß sie, einmal reif geworden, einen großen Teil der Keime, aber nicht alle, zurückhalten. Ein gewisser Prozentsatz — in günstigen Fällen bloß eine Fraktion eines Prozents — passiert den Filter und wird also im filtrierten Wasser wiedergefunden. Ist das Flußwasser infiziert, so wird zwar die Gefahr durch die erwähnte Reinigungsmethode verringert, aber nicht ganz aufgehoben. Als Indikator für diese Gefahr können auch hier wieder die *Coli-Bacillen* dienen. Wir dürften erwarten, daß dermaßen gereinigtes Flußwasser, wenn nur eine genügende Quantität dem Versuche unterzogen wurde, ein positives Ergebnis liefern würde. Dies bewährte sich tatsächlich. Wiederholt untersuchten wir das Wasser der Rotterdamer und Goudaer Flußwasserleitung und einmal auch das der

Amsterdamer ¹⁾ Nutzwasserleitung. All diese Wassersorten zeigten bei 46° Gärung, bald schon in Quantitäten von 10 ccm, bald erst, wenn größere Kolben, von 25—100 ccm Inhalt, benutzt wurden.

Die Zahl der in der Plattenkultur bei 22° zur Entwicklung gelangenden Keime betrug bei dem Leitungswasser von Rotterdam einige Hunderte per Kubikcentimeter, bei dem von Gouda 34—250, bei dem von Amsterdam bis zu 500.

Günstiger war das Ergebnis bei mittelst Ozon gereinigtem Oberflächenwasser. Wir hatten Gelegenheit, Wasser aus dem Vechtflüssen bei dem Städtchen Weesp (Prov. Nord-Holland) und aus der Mark bei Ginniken (oberhalb Breda) zu untersuchen, das nach Schnellfiltrierung durch Sand mittels Ozon gereinigt wurde. Was bei der Sandfiltration nicht zu gelingen scheint, hat sich bei der Ozonierung wenigstens als möglich erwiesen, nämlich das Wasser dermaßen zu reinigen, daß die damit angestellte Gärungsprobe bei 46° günstig ausfällt, auch wenn größere Quantitäten (300 ccm) zur Untersuchung gelangen.

Bei der mikroskopischen Untersuchung des bei 46° gärenden Inhalts der Kolben findet man darin mit mehr oder weniger Eigenbewegung begabte, meistens jedoch unbewegliche Stäbchen, dann und wann mit Kokken vermischt. Nicht selten hat man es mit einer Reinkultur gasbildender Bacillen zu tun, in anderen Fällen kann man mit Hilfe der Plattenkultur mehr als eine Species isolieren, von denen dann mindestens eine die Eigenschaft besitzt, Glykose unter Säurebildung noch bei 46° zu vergären. Ich darf aber nicht behaupten, obschon dies der eigentliche Ausgangspunkt der ganzen Untersuchung war, daß die Gasbildner immer echte Coli-Bacillen sind. Unter jenen werden zwar viele angetroffen, die alle morphologischen und kulturellen Eigenschaften der letzteren besitzen. Jedoch gibt es auch solche, die in einer oder mehreren Hinsichten davon abweichen, die z. B. kein Indol bilden in Peptonwasser, Milch nicht gerinnen machen oder eine andere als die typische Wuchsform auf Gelatine und Kartoffel zeigen. Auch die Intensität der Gärung ist ziemlich verschieden. Bald ist nach 24 Stunden das geschlossene Ende des Gärungskolbens zur größeren Hälfte mit Gas gefüllt, in anderen Fällen vielleicht nur zu einem Zehntel. Einige dieser Gasbildner sind bestimmt keine Coli-Bacillen, sondern müssen zu den Buttersäurebacillen gerechnet werden, die sich durch den penetranten Geruch der gärenden Flüssigkeit verraten. Daß diese nicht aus dem Darne herkommen und ihre Anwesenheit also nicht für fäkale Verunreinigung zeugen würde, ist damit noch nicht besagt. Auch in Faeces, in Mist, in Kompost und Humus fand ich Mikroorganismen, nicht zu den Coli-Bacillen strictu sensu gehörend, die sich noch bei 46° in Glykose enthaltenden Medien vervielfältigen und Gas bilden können.

Immerhin bleibt die empirische Tatsache, daß Wasser unverdächtigen Ursprungs bei 46° nicht reagierte, wohl hingegen und ohne Ausnahme diejenigen von uns untersuchten Wässer, bei denen man von vornherein annehmen konnte, daß Fäkalien hineingelangen. Weil aber die letzteren alle Oberflächenwasser waren, könnte man sich die Sache auch noch dergestalt vorstellen, daß diese, ihrer Art entsprechend, im Besitz einer viel reicheren und mannigfaltigeren mikroskopischen Flora

1) Amsterdam hat eine Trinkwasserleitung mit *Prise d'eau* in den Dünen und eine Nutzwasserleitung, die mit filtriertem Flußwasser gespeist wird.

als die tiefen Grundwasser, vielleicht regelmäßig, auch ganz abgesehen also von fäkalen Verunreinigung, thermotolerante Gärungsorganismen enthalten. Bei einer in dieser Richtung fortgesetzten Untersuchung zeigte es sich indes, daß die betreffenden Organismen durchaus nicht so allgemein verbreitet vorkommen, auch ohne Zusammenhang mit fäkalen Verunreinigung, daß dadurch der Wert der Gärungsprobe bei 46° bedeutend beeinträchtigt werden würde.

Was in erster Linie die Luft betrifft, so trat in Kolben, die mit feinem, auf einen hohen Schrank niedergesunkenem Staub geimpft waren, bei 46° keine Gärung auf. Auch Regenwasser, das in einem, unter den freien Himmel gestellten, sterilen Gefäße aufgefangen wurde und also nur die aus der Luft mitgespülten Keime enthielt, ergab wiederholt ein negatives Resultat. Ebenso das in bakteriologischer Hinsicht reine und unverdächtige, aber eisenhaltige Wasser aus tiefen Röhrenbrunnen, nachdem man es zum Zweck der Enteisung als einen künstlichen Regen hatte fallen lassen. Als hingegen mit dem aus einer Dachrinne aufgefangenen und folglich unter anderem mit Vogelfaeces verunreinigten Wasser die Gärungsprobe bei 46° angestellt wurde, war das Ergebnis positiv. Nur nach einem anhaltenden und überreichlichen Niederschlag, wodurch Dächer und Rinnen reingespült wurden, und als Kolben von nicht mehr als 10 ccm benutzt wurden, geschah es wohl, daß auch das aus einer Dachrinne aufgefangene Regenwasser ein negatives Resultat ergab. Man brauchte dann aber bloß größere Quantitäten zu nehmen, um die Gärung bei 46° in der Regel wieder auftreten zu sehen.

Daß nun auch Oberflächenwasser nicht per se thermotolerante Gärungsorganismen zu enthalten braucht, lehren die folgenden Beispiele: An erster Stelle haben wir das Wasser aus einem gegrabenen, offenen Bassin mitten in der Soester Heide untersucht. Dieses Bassin ca. 85 m breit, 100 m lang, bei 7 m tief, durch Grundwasser genährt, diente bis vor einigen Jahren als Prise d'eau für die Utrechter Wasserleitung, ist aber seitdem außer Gebrauch gesetzt und durch Röhrenbrunnen ersetzt. Wir haben es hier mit einem tiefen Teiche zu tun, der mit Fischen bevölkert ist und in dem auch allerlei Wasserinsekten nebst Wasserpflanzen leben. Auch die mikroskopische Fauna und Flora ist darin reichlich vertreten. Dennoch darf dieses Wasser in hygienischer Hinsicht als unbedenklich gelten. Zwar muß fäkale Verunreinigung durch Wassertiere und, mehr zufällig, auch wohl durch Vögel, stattfinden, allein Gefahr für Infektion ist für den Menschen damit doch nicht verbunden zu achten.

Dieses Wasser wurde von uns wiederholt untersucht, immer aber mit negativem Ergebnis: In etlichen Hunderten von Kubikcentimetern war kein einziger bei 46° kultivierbarer Coli-Bacillus, noch andere thermotolerante Gärungsbakterien nachzuweisen.

Hierbei verdient bemerkt zu werden, daß Süßwasserfische in ihren Gedärmen colähnliche Bacillen beherbergen, die jedoch, nach unter Leitung von Broers ausgeführten Untersuchungen von Remmeltz¹⁾ beim Aale, bei Bruttemperatur nicht kultivierbar zu sein scheinen. Und was die Verunreinigung durch vorüberfliegende Vögel betrifft, so ist diese selbstverständlich im Verhältnis zu der großen Wassermenge quantitativ

1) Untersuchungen betreffend *Bacillus coli communis* bei Säugetieren, Vögeln und Fischen. (Inaug.-Dissert.) Bern 1902.

so gering, daß sie praktisch nicht in Betracht kommt und denn auch nicht durch unsere Probe nachgewiesen werden konnte.

Eine ähnliche Erfahrung haben wir mit dem Wasser auf dem Sandfilter der Wasserleitung in Alfen gemacht. Das an Keimen arme, aber eisenhaltige Grundwasser, wovon oben schon die Rede war, wird regenartig fallen gelassen, läuft dann über Kokes, und wird darauf durch Sand filtriert. Das einige Dezimeter hoch auf dem Sande stehende Wasser sieht nicht sehr rein aus, es enthält Entengrün, Wasserkäfer, Insektenlarven (unter anderem von Mücken), abgefallene Blätter u. s. w. Die Zahl der Kolonien in der mit diesem Wasser angelegten Plattenkulturen betrug jedesmal ein paar Tausend per Kubikzentimeter. Dennoch lieferte dieses Wasser, als die Gärungsprobe bei 46° damit angestellt wurde, wiederholt ein negatives Ergebnis.

Wir sehen also, daß die thermotoleranten Gärungsorganismen durchaus nicht ohne weiteres als zur normalen Flora der Oberflächenwasser gehörend betrachtet werden dürfen und daß ihre Anwesenheit in der Tat sehr für Fäkalverunreinigung spricht. Ganz anders steht es mit den weniger thermotoleranten Arten; die nur bei Temperaturen unter 40° noch gut kultivierbaren, Glykose vergärenden Bakterien kommen nach unserer Erfahrung sehr allgemein verbreitet im Wasser vor. Insofern stehen wir also mit Houston im Widerspruche, der empfiehlt, bei 20° zu züchten, und der jede Spur von Gärung dabei als verdächtig betrachtet. Im Gegenteil glauben wir in der Züchtung bei höherer Temperatur einen großen Schritt vorwärts sehen zu dürfen, wo es gilt, jene Mikroorganismen in den Vordergrund zu rücken, welche eine hervorragende symptomatische Bedeutung haben in Hinsicht auf hygienisch wichtige Verunreinigung des Wassers.

Nur an Keimen sehr arme Wässer, wie das der Utrechter Wasserleitung und andere keimarme, durch tiefe Röhrenbrunnen dem Boden entzogene Grundwasser, gaben auch bei gewöhnlicher Brutwärme (37°) und bei Zimmertemperatur kein Gas im Gärungskolben. Positiv hingegen war bei den genannten Temperaturen das Ergebnis mit direkt in einem sterilen Fasse aufgefangenem Regenwasser, dem Wasser aus dem Bassin auf der Soester Heide, dem des Sandfilters in Alfen, dem Amsterdamer und Haager Dünerwasser, dem Leitungswasser von Arnheim, Maastricht u. s. w., kurz bei einer Anzahl tatsächlich unverdächtigter Wassersorten. Der Vollständigkeit halber möge noch bemerkt werden, daß hier die Gärung nicht selten erst am zweiten Tage deutlich war, wie auch Houston angibt. In allen angeführten Fällen konnten Gärungsorganismen, größtenteils zur Coli-Gruppe im weiteren Sinne gehörend, aus den Kolben isoliert werden, die sich aber bei 46° nicht mehr zu entwickeln vermochten.

Im Laufe unserer Untersuchungen sind wir also dazu gekommen, an die Stelle der Coliprobe die Gärungsprobe bei 46° zu setzen und dieser den Wert zuzusprechen, daß ein positives Ergebnis auf fäkale Verunreinigung hinweist.

Was die Anwendbarkeit der Methode anbetrifft, so erscheint sie bei von den Dächern aufgesammeltem Regenwasser weniger angebracht, weil man eigentlich schon von vornherein weiß, daß sie hier positiv ausfallen muß; auch ist dies in diesem Falle nicht so schlimm, da hier — wenigstens wenn der Behälter von guter Konstruktion ist — in der

Regel wohl nicht von Verunreinigung durch menschliche Exkremente die Rede sein wird.

Anders ist dies mit Grundwasser. Auch hier läßt die Probe uns darüber in Ungewißheit, ob die Verunreinigung vom Tier oder vom Menschen herrührt; wo aber die lokalen Verhältnisse derartige sind, daß das eine stattfinden kann, da ist auch das andere im allgemeinen wohl nicht als ausgeschlossen zu erachten.

Was schließlich die Oberflächenwässer anbetrifft, so wird sich hier aus naheliegenden Gründen nur in einzelnen Ausnahmefällen ein günstiges Resultat ergeben.

Die Vorteile der Methode für die Praxis der Trinkwasseruntersuchung fallen ins Auge.

Erstens fällt der Versuch auch in den Bereich des nicht berufsmäßigen Bakteriologen; denn, da Gärung bei 46° jedenfalls als ein ungünstiges Zeichen zu betrachten ist, kann eine nachfolgende Untersuchung nach der Art der gärungsbewirkenden Mikroben füglich unterbleiben.

Zweitens läßt das Resultat verhältnismäßig kurze Zeit auf sich warten. Meistens innerhalb 24 Stunden gibt der Gärungskolben schon Aufschluß, während damit bei anderen bakteriologischen Untersuchungsmethoden immer eine Anzahl von Tagen hingeht. Vorsichtshalber wird man aber gut tun, im Falle eines negativen Resultates, den Versuch noch einen Tag fortzusetzen.

Ein dritter Vorteil liegt darin, daß der Versuch nicht unmittelbar, nachdem man die Wasserprobe entnommen hat, angestellt zu werden braucht; diese darf also behufs der Untersuchung versandt werden, braucht nicht kühl aufbewahrt zu werden, und noch Tage nachher kann ein Versuch damit angestellt werden. Dieser letztere Punkt wurde absichtlich von mir untersucht und dabei stellte es sich heraus, daß Wasser, welches bei 46° Gärung verursacht, diese Eigenschaft immer Tage und nicht selten Wochen lang behält.

Wenn es erlaubt ist, daraus Folgerungen zu ziehen in Bezug auf die natürlichen Verhältnisse, so wäre es u. a. diese, daß, wenn einmal eine fäkale Verunreinigung des Wassers, z. B. eines Brunnens, stattgefunden hat, die Spuren davon, wenn sie nicht durch reichliche Entnahme des Wassers beseitigt werden, noch lange nachzuweisen sein werden, was wieder ein Vorteil der Methode zu nennen ist. Immerhin kann es dann nötig sein, ein größeres Wasserquantum zu untersuchen und nun hat gerade unsere Methode das für sich, daß sie es ermöglicht, soviel Wasser, wie man will, dazu zu verwenden.

Bei Graben- und Flußwasser sind, wie gesagt, Fraktionen von 1 ccm resp. höchstens einige Kubikcentimeter schon genügend.

Bei der Untersuchung einiger Utrechter Brunnenwasser aus unreinem Boden aber hat sich mir gezeigt, daß ebenso wie bei filtriertem Flußwasser Mengen von mindestens 100 ccm nötig sein können, um noch ein positives Ergebnis zu bekommen. Ich gebrauche dazu Gärungskolben, wovon der geschlossene Schenkel diese Quantität enthalten kann. Es wird dann die erforderliche Menge glykosehaltige Nährflüssigkeit (s. oben) hinzugefügt. Man fülle drei solcher Kolben; soll das Wasser gut sein, so darf in keinem einzigen davon Gärung bei 46° auftreten.

Die Kolben werden natürlich vorher mit einem Wattepfropfen abgeschlossen und sterilisiert. Da ein gläserner Fuß beim Sterilisieren leicht zerbricht, habe ich Gärungskolben ohne festen Fuß herstellen

lassen, die mittelst einer Federklemme an einem Ständer von dickem Kupferblech befestigt werden.

Man kann auch auf verschiedene Weise eine gewöhnliche Flasche als Gärungskolben einrichten. Die einfachste Weise ist wohl die, daß man in eine (sterilisierte) Arzneiflasche erforderlichen Inhalts (z. B. 100 ccm) die nötige Menge Nährflüssigkeit bringt, mit dem zu untersuchenden Wasser bis an den Rand nachfüllt, die Oeffnung mit einem flambierten Deckgläschen schließt und nun die Flasche umgekehrt in ein (sterilisiertes) Becherglas stellt, in das man vorher etwas vom Wasser gegossen hat. Während Infektion durch Luftkeime den Versuch kaum verderben wird, muß man sehr auf seiner Hut sein vor Kontaktinfektion (mit den Fingern u. s. w.); die Gefahr dafür ist bei den improvisierten Gärungskolben größer; man muß sorgfältig vermeiden, die Mündung, den Hals und den daran grenzenden Teil der Flasche mit den Fingern zu berühren und Sorge tragen, daß etwa an der Außenwand abgeflossenes Wasser beim Umwenden der Flasche nicht zurückläuft.

Um Kontaktinfektion vorzubeugen, ist es natürlich auch nötig, den Hahn, aus dem man die Probe nimmt, und die Mündung der sterilisierten Flasche, in der man dieselbe auffängt, vorher zu flambieren. Auch ist es gut, den Hahn einige Minuten laufen zu lassen, ehe man die Flasche daraus füllt, welch letztere dann mit einem sterilen Pfropfen geschlossen wird.

Als Brutofen läßt sich sehr gut ein gewöhnlicher Trockenschrank einrichten, den man mit einem Thermoregulator versieht. Sehr bequem ist zu diesem Zweck ein Quecksilberregulator nach Lothar Meyer, in dem ein wenig Schwefelkohlenstoff eingeschlossen wird. Letztere Flüssigkeit kocht bei 46° und gibt also ungefähr bei der erforderlichen Temperatur eine ansehnliche Verschiebung der Quecksilbersäule. Der Schwefelkohlenstoff muß vorher durch energisches Schütteln mit Quecksilber gereinigt werden.

Wenn mit dem Boden entzogenem Wasser der Versuch positiv ausfällt, ist die Beurteilung nicht schwer, das Wasser ist untauglich. Weniger leicht ist die Entscheidung im entgegengesetzten Falle. Zwar ist das ein günstiges Zeichen und wenn außerdem der Inhalt des Gärungskolbens, oder wenigstens der des geschlossenen Teiles, klar geblieben ist, spricht dieses auch noch für die Armut des Wassers an Keimen überhaupt. Allein damit ist die Möglichkeit, daß das Wasser zu einer anderen Zeit verunreinigt befunden werden könnte, nicht ausgeschlossen. Unreine Zuflüsse nach einem Brunnen oder einer Quelle finden nicht immer durchgehend statt, sondern nicht selten mit regelmäßigen oder unregelmäßigen Zwischenpausen, z. B. bei oder nach einem starken Niederschlag oder bei zeitweiligem Hochstand des Inhalts einer Senkgrube in der Nähe. Und darum ist es also, namentlich wenn der Ursprung des Wassers einigermaßen verdächtig erscheint und dessen ungeachtet das Ergebnis des Versuchs günstig war, ratsam, diesen zu einer anderen Zeit zu wiederholen. Diese Lücke hat unsere Versuchsweise mit jeder Methode der Wasseruntersuchung, mag diese eine chemische oder eine bakteriologische sein, gemein.

Hauptsache und am sichersten zum Entscheid führend bleibt denn auch eine möglichst eingehende Untersuchung der *Prise d'eau*. Die Schwierigkeit liegt aber gerade darin, daß eine solche in der Praxis nur selten dem Bedürfnis entsprechend auszuführen ist, weil die Gelegenheit oder die Hilfsmittel dazu fehlen. Alle, die sich bei hygienischer Woh-

nungsinspektion mit der Untersuchung der Wasserversorgung beschäftigt haben, und seit der Errichtung der Gesundheitskommissionen gibt es deren viele — können darüber mitsprechen. Manchmal weiß man nicht einmal anzugeben, wo der Brunnenschacht liegt, viel weniger, wie er konstruiert ist, noch wie und wo die Abführkanäle in der Umgebung laufen und ob diese wasserdicht sind, wie die Beschaffenheit der Bodenschichten ist, wie es mit der Fäkalgrube steht u. s. w. Mit der Untersuchung des Wassers muß man sich also gewöhnlich begnügen und hierbei kann, wie es mir scheinen will, die Gärungsprobe bei 46° mit Erfolg angewandt werden.

Auch für die bakteriologische Kontrollierung der Sandfilter unserer Flußwasserleitungen möchte ich sie zur Erprobung anempfehlen. Wie wir gesehen haben, kann man es hier nicht erwarten und also auch nicht verlangen, daß der Versuch mit jeder willkürlichen Quantität Wasser negativ ausfällt. Man muß denselben also quantitativ einrichten. Indem man das zu untersuchende Wasser auf eine Anzahl kleiner Kölbchen verteilt, kann man annähernd die Minimumquantität, welche bei 46° noch Gärung aufweist, feststellen. Um ein paar Zahlen zu nennen, so möchte ich bei Sandfiltern vorläufig die Anforderung stellen, daß von 10, je 10 ccm Wasser enthaltenden Kölbchen höchstens zwei bei 46° Gärung zeigen dürfen. Indes wird es wohl das Richtige sein, daß jeder Bakteriologe für die unter seiner Kontrolle stehende Filteranstalt selber erfahrungsmäßig näher bestimmt, wie weit er mit seinen Anforderungen in dieser Hinsicht wird gehen dürfen und müssen.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Ein-sendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabsätze direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

- Carroll, James**, Notiz, Gelbfieber betreffend, p. 666.
- De Vecchi, Bindo**, Beitrag zum Studium der Wirkung einiger Organextrakte bei den akuten Infektionsprozessen (Schluß), p. 708.
- v. Dungern**, Erwiderung auf eine Bemerkung von Arrhenius und Mad-sen in ihrer Abhandlung: „Toxines et Antitoxines“, p. 706.
- Eijkman, C.**, Die Gärungsprobe bei 46° als Hilfsmittel bei der Trinkwasserunter-suchung, p. 742.
- Ellermann, V.**, Ueber die Kultur der fusiformen Bacillen, p. 729.
- Fehrs, L.**, Ueber den Desinfektionswert verschiedener Handelsmarken von Liquor cresoli saponatus des deutschen Arznei-buches, p. 730.
- Gordon, Mervyn H.**, Einige Angaben zur Differenzierung von Streptokokken, p. 728.
- Jakimoff, W. L.**, Zur Biologie der Trypanosomen der Nagana und des Mal de Cadéras, p. 668.
- v. Linstow**, Neue Helminthen, p. 678.
- Riemer**, Kurze Mitteilung über eine bei Gänsen beobachtete exsudative Septikämie und deren Erreger, p. 641.
- Rodet, M. A.**, A propos de la propriété agglutinative de certains sérums normaux pour le bacille d'Eberth, p. 714.
- Scagliosi, G.**, Ueber veränderte Eigenschaften des Bacillus anthracis, p. 649.
- Seitz, O.**, Ueber Händinfektion und -desinfektion, p. 721.
- Sommerfeld, Paul**, Besitzen die löslichen Eiweißkörper der Milch spezifische bakterizide Eigenschaften?, p. 716.
- Wolf, Alfred**, Ueber Grundgesetze der Immunität. (Schluß), p. 684.
- Zlatogoroff, S. J.**, Zur Morphologie und Biologie des Mikroben der Bubonenpest und des Pseudotuberculo-bacillus der Nagetiere (Bac. pseudotuberculosis rodentium Pf.) (Schluß), p. 645.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XXXVII enthaltenen Arbeiten.

- Almqvist, E.**, Neue Entwicklungsformen des Choleraspirills und der Typhusbakterie. 18
- Arrhenius, S. et Madsen, Th.**, Toxines et antitoxines. Le poison diphtérique. 1
- Bachmann, E.**, Beitrag zur Kenntnis des Bacillus des malignen Oedems. 221. 353.
- Ball, O.**, Untersuchungen über natürliche und künstliche Milzbrandimmunität. 270
- Bandi, J.**, Beitrag zur Serumbehandlung bei Anthrax. 464
- Barthel, Chr. und Stenström, O.**, Weitere Beiträge zur Frage des Einflusses hoher Temperaturen auf Tuberkelbacillen in der Milch. 459
- Beitzke, H.**, Ueber einen Fall von Meningitis, verursacht durch *Bacterium lactis aërogenes*. 496
- Berner, O.**, On a vial for the culture of anaërobic bacteria on plates. 478
- Bertarelli, E.**, Ueber den Bacillus prodigiosus und die Theorien von der natürlichen Immunität. 617
- Ueber die Wege, auf denen das Wutvirus zu den Speicheldrüsen des Hundes gelangt. 213
- und **Volpino, G.**, Experimentelle Untersuchungen über die Wut. Filtration des Straßenvirus und Erschöpfung des Virus durch die Filter. 51
- Bose, F. J.**, Les maladies bryocytiques. II. La maladie vaccinale et son parasite (*Plasmodium vaccinae*). 39. 195
- Calamida, D.**, Ueber die Wirkung des Sublimates bei den experimentellen Milzbrandinfektionen bei angeboren immunen Tieren. 11
- Carul, A.**, Impftisch für Rinder. 156
- Kuhpockenlymphe und Tetanus. 48
- Kuhpockenlymphe und Tuberkulose. 261
- Carroll, J.**, Notiz, Gelbfieber betreffend. 666
- Crelte, Z.**, Zum Nachweis von Tetanusbacillen in Organen des Menschen. 312
- de'Rossi, G.**, Filtrierbarkeit der Geißeln der Bakterien und ihre Funktion als freie Rezeptoren. 433
- Ueber die Agglutinationsfrage und insbesondere die Beteiligung der Geißeln der Bakterien. 107
- DeVecchi, B.**, Beitrag zum Studium der Wirkung einiger Organextrakte bei den akuten Infektionsprozessen. 577. 708
- Dechunowsky, E.**, Apparat zur sterilen Defibrinierung des Blutes. 159
- Duchačec, F.**, Neue biologisch-chemische Untersuchungen über den *Bacillus typhi abdominalis* und *Bacterium coli commune*. 161. 326
- v. Dungern**, Erwiderung auf eine Bemerkung von Arrhenius und Madsen in ihrer Abhandlung: „Toxines et antitoxines.“ 706
- Dworetzky, A.**, Erfahrungen mit der Spenglerschen Formalinmethode zur Reinzüchtung von Tuberkelbacillen aus Bakteriengemischen. 626
- Eijkman, C.**, Die Gärungsprobe bei 46° als Hilfsmittel bei der Trinkwasseruntersuchung. 742
- Ueber thermolabile Stoffwechselprodukte als Ursache der natürlichen Wachstumshemmung der Mikroorganismen. 436
- Ellermann, V.**, Ueber die Kultur der fusiformen Bacillen. 729
- Fehrs, L.**, Ueber den Desinfektionswert verschiedener Handelsmarken von Liquor cresoli saponatus des Deutschen Arzneibuches. 730
- Fischer, H.**, Die Bedeutung der Agglutination zur Diagnose der pathogenen und saprophytischen Streptokokken. 449. 597
- Friedberger, E.**, Ein Beitrag zur Wirkungsweise lytischer Immunkörper (*Ambozeptoren*). 125
- siehe **Pfeiffer, R.**
- Fuhrmann, O.**, Neue Trematoden. 58
- Galli-Valerio, B.**, Influence de l'agitation sur le développement des cultures. 151
- Glemsa, G.**, Eine Vereinfachung und Vervollkommnung meiner Methylenazur-Methylenblau-Eosin-Färbemethode zur Erzielung der Romanowsky-Nochtschen Chromatinfärbung. 308
- Gordon, M. H.**, Einige Angaben zur Differenzierung von Streptokokken. 728
- Higgins, Ch. H.**, Acetylene as a gas for bacteriological laboratories. 317
- Hinterberger, A. und Reitmann, C.**, Verschiedenes Wachstum des *Bacillus pyocyaneus* auf Nähragar je nach dessen Wassergehalt. 169
- Jakimoff, W. L.**, Zur Biologie der Trypanosomen der Nagana und des Mal de Caderas. 668
- Kartulis**, Gehirnabscesse nach dysenterischen Leberabscessen. 527

- Kraus, A.**, Zur Färbung der Hyphomyceten im Horngewebe. 153
- Kraus, R. und Joachim, J.**, Ueber Beziehungen der präzipitogenen Substanz zur agglutinogenen der Bakterien. 73
- Lichtenheld, G.**, Ueber die Fertilität und Sterilität der Echinokokken bei Rind, Schwein, Schaf und Pferd. 64
- Lingard, A.**, Resistance against Rinderpest and other infectious diseases conferred by the subcutaneous injection of certain bile products and also by the injection of substances prepared from animal testes and the seeds of plants. 246
- The trypanosoma of Dourine and its life history. 537
- v. Linstow**, Neue Helminthen. 678
- Loeb, L.**, Ueber das endemische Vorkommen des Krebses beim Tiere. 235
- und **Smith, A. J.**, Ueber eine die Bluterinnerung hemmende Substanz in *Anchylostoma caninum*. 93
- Lüdke, H.**, Beiträge zur Hämolyse. 288. 418
- Markl**, Beitrag zur Kenntnis der Nagana-infektion bei Meerschweinchen. 530
- Mendez, J.**, Ueber Milzbrandantitoxin. 405
- Moro, E.**, Beiträge zur Kenntnis des Lab-enzym. 485
- Muto, T.**, Ein eigentümlicher *Bacillus*, welcher sich schneckenartig bewegende Kolonien bildet (*B. helixoides*). 321
- Neumann, R. O.**, Kapseltragende pathogene Streptokokken im Rachenraum. 481
- Oestern, K.**, Beitrag zur Kenntnis der Bakterienflora der erweichten tuberkulösen Herde des Rindes. 178. 334. 498
- Oker-Blom, M.**, Bestimmung der elektrischen Leitfähigkeit mit Bezug auf bakteriologische Zwecke. 150
- Ottolenghi, D.**, Entgegnung auf einige Bemerkungen von Dr. A. Grimme und Dr. v. Růžicka, meinen Artikel „Ueber die feinere Struktur des Milzbrand-bacillus“ betreffend. 194
- Ueber das Vorhandensein von Komplement im Fibrin. 584
- Pfeiffer, R. und Friedberger, E.**, Ueber den Verbleib der bakteriolytischen Immunkörper im tierischen Organismus nach der passiven Immunisierung. 131
- — Weitere Beiträge zur Frage der Antisera und deren Beziehungen zu den bakteriolytischen Ambozeptoren. 138
- Pröschner**, Die Gewinnung von Antistaphylokokkenserum. 295
- Reitmann, C.** siehe **Hinterberger, A.**
- Riemer**, Kurze Mitteilung über eine bei Gänsen beobachtete exsudative Septikämie und deren Erreger. 641
- Rodella, A.**, Einiges zur Technik der bakteriologischen Untersuchungen der Mundhöhle. 314
- Rodet, A.**, A propos de la propriété agglutinative de certains sérums normaux pour le bacille d'Eberth. 714
- Rothmann, E. A.**, Glischrobacterium als Ursache der schleimigen Gärung des Menschenurins. 491
- Russ, V.**, Zur Frage der Bakterizide durch Alkohol. 115. 280
- Sacharoff, G.**, Ueber die Gewöhnung der Milzbrandbacillen an die bakterizide Wirkung des Serums. 411
- Sachs, H.**, Ueber den Standpunkt Bordets in der Toxinfrage. 398
- Ueber die Bedeutung des Danysz-Dungernschen Kriteriums, nebst Bemerkungen über Protoxide. 251
- Sartirana, S.**, Ein neuer Beitrag zur Kenntnis der cytotoxischen Sera. 144
- Seagillos, G.**, Ueber veränderte Eigenschaften des *Bacillus anthracis*. 649
- Schüller, M.**, Ueber die Chromatinkörper der Krebs- und Sarkomparasiten des Menschen. 547
- Seltz, O.**, Ueber Händinfektion und -desinfektion. 721
- Sellards, A. W.**, Some researches on anaërobic cultures with phosphorous. 632
- Selter**, Ueber Sporenbildung bei Milzbrand und anderen sporenbildenden Bakterien. 186. 381
- Serkowsky, S.**, Ein neuer Nivellierapparat und dessen Anwendung. 637
- Smith, A. J.** siehe **Loeb, L.**
- Sommerfeld, P.**, Besitzen die löslichen Eiweißkörper der Milch spezifische bakterizide Eigenschaften? 716
- Stenström, O.** siehe **Barthel, Chr.**
- Stüler, A.**, Neue Methoden zur Anaërobenkultur und -Anaërokultur. 298
- Symmers, Wm. St. C.**, Note on a method of maintaining the virulence of a pathogenic micro-organism. 23
- Theller, A.**, Beitrag zur Frage der Immunität bei der Piroplasmose des Hundes. 401
- Uebelmesser, H.**, Die Desinfektionskraft des käuflichen Liquor cresoli saponatus. 469
- Valardo, F.**, Bakteriologische Untersuchungen über Cervicitis und Endocervicitis bei Schwangerschaft. 229. 364
- Volpino, G.** siehe **Bertarelli, E.**
- Wagner, G. A.**, Puerperalerkrankung bei Meerschweinchen. 25
- Weil, E.**, Ueber den Einfluß der Temperatur auf die spezifische und nicht spezifische Agglutination. 98

Well, E., Ueber den Mechanismus der Bakterienagglutination durch Gelatine. 426
 Wolff, A., Ueber Grundgesetze der Immunität. 390. 566. 684
 Zlatogoroff, S. J., Zur Mikrobiologie der Masern. 249

Zlatogoroff, S. J., Zur Morphologie und Biologie des Mikroben der Bubonenpest und des Pseudotuberkulosebacillus der Nagetiere (B. pseudotuberculosis rodentium Pf.) 345. 513. 654

II. Namen- und Sachverzeichnis.

Acetylen, Anwendung im bakteriologischen Laboratorium. 317
 Agglutination der Bakterien durch Gelatine. 426
 —, Einfluß der Temperatur. 98
 Alkohol, bakterientötende Kraft. 115. 280
 Anaëroben, Kultur mit Phosphor. 632
 —, neue Kulturmethoden. 298
 —, Plattenkulturen. 478
 Angiostomum serpenticola v. Linst. in Heterodon platyrhinus. 678
 Ankylostomum caninum, Blutgerinnung hemmende Substanz. 93
 Anthobothrium tortum v. Linst. in Phoca barbata. 682
 Antilab in Menschenmilch. 489
 Antistaphylokokkenserum, Gewinnung. 295
 Bacillen fusiforme, Kultur. 729
 Bacillus anthracis symptomatici, Sporenbildung. 387
 — botulinus, Sporenbildung. 387
 — helixoides Kitas., Entwicklung. 321
 — megatherium, Verhalten gegen Schütteln. 152
 — oedematis maligni, Agglutinationsversuche. 353
 — — —, Morphologie und Biologie. 222
 — — —, Pathogenität. 225
 — — —, Sporenbildung. 387
 — pneumoniae, Verhalten gegen Schütteln. 152
 — prodigiosus, pathogene Eigenschaften. 617
 — —, Verhalten gegen Kresolseifenlösung. 471
 — pseudotuberculosis rodentium, Eigenschaften. 657
 — pyocyaneus, Verhalten gegen Schütteln. 152
 — —, Wachstum auf Agar mit verschiedenem Wassergehalt. 169
 — septicæmiæ anserum exsudativæ Rieme als Ursache der exsudativen Gänseseptikämie. 643
 Bacterium coli commune, Verhalten gegen Alkohol. 282
 — — —, Verhalten gegen Kresolseifenlösung. 472
 — — —, Verhalten gegen Schütteln. 152
 — lactis aerogenes bei Meningitis. 496
 — vulgare, Verhalten gegen Schütteln. 152
 Bertia forcipata v. Linst. in Lagidium peruanum. 681

Bothriocephalus ratticola v. Linst. in Mus rattus. 682
 Bothriogaster variolaris Fuhrm. in Rost-rhamus sociabilis. 59
 Carcinom, endemisches Vorkommen bei Tieren. 235
 Carcinom- und Sarkomparasiten, Chromatinkörner. 547
 Cervicitis und Endocervicitis Schwangerer, bakteriologische Befunde. 229. 364
 Choleravibrionen, Beeinflussung durch Salz. 19
 —, Erhaltung der Virulenz. 23
 —, Konidienbildung. 19
 Chromatinkörper bei Krebs- und Sarkomparasiten. 547
 Cittotaenia quadrata v. Linst. in Lagidium peruanum. 680
 Defibrinierung sterile des Blutes, Apparate. 159
 Diphtheriebacillen, Verhalten gegen Alkohol. 282
 Diphtheriegift, Bindungsverhältnisse. 706
 Durine, Krankheitsverlauf. 537
 Echinokokken bei Haustieren, Histologie. 64
 Echinostomum armatum Fuhrm. in Rost-rhamus sociabilis. 61
 — inerme Fuhrm. in Lutra. 63
 Endotoxine, Beziehungen zu Cytotoxinen. 575. 684
 —, Eigenschaften. 570
 Fibrin, Vorhandensein von Komplement. 584
 Gänseseptikämie exsudative, Ursache. 641
 Gehirnabscesse nach dysenterischen Leberabscessen. 527
 Geißeln der Bakterien, Filtrierbarkeit. 433
 — —, Verhalten bei der Agglutination. 107
 — —, Wirkung als freie Rezeptoren. 433
 Gelbfieber, Erzeugung. 666
 Glischrobacterium bei schleimiger Gärung des Harns. 491
 Hämolytine, erstes Auftreten. 288. 418
 —, Regenerationsfähigkeit nach Blutverlusten. 419
 —, Vererbbarkeit. 421
 Händedesinfektion, Methode. 721
 Harngärung schleimige, Ursache. 491
 Herde tuberkulöse des Rindes, Bakterienflora. 178. 334. 498.

- Heubacillen, Sporenbildung auf festen Nährböden. 386
 —, — in flüssigen Nährmedien. 385
 Hundswut, Filtration des Straßenvirus. 51
 —, Leitbahnen des Virus zum Vordringen in die Speicheldrüse des Hundes. 213
 Hyphomyceten, Färbung im Horngewebe. 153
 Immunitätslehre, Uebersicht. 390. 566. 684
 Immunkörper bakteriolytische Beziehungen zu Antisera. 138
 —, Verbleib im Organismus nach der passiven Immunisierung. 131
 — lytische, Wirkungsweise. 125
 Impftisch für Rinder. 156
 Kohlendioxyd, Bildung aus Glukose durch *Bact. coli commune*. 164
 Komplemente im Fibrin. 584
 Kresolseifenlösung, Desinfektionswert. 469
 Kuhpockenlymphe, Gehalt an Tuberkelbacillen. 261
 Labenzym im Magen Neugeborener. 485
 Labenzyme tierische, Spezifität. 487
 Leitfähigkeit elektrische, Bestimmung für bakteriologische Zwecke. 150
 Liquor cresoli saponatus, Desinfektionswert verschiedener Marken. 730
 Masern, bakteriologische Befunde. 249
 Meningitis durch *Bacterium lactis aërogenes*. 496
 Milch, bakterizide Eigenschaften. 716
 Milzbrand, Heilung des Menschen durch Serum. 405
 —, Schutzimpfung bei Schafen. 270
 —, Serumbehandlung beim Menschen. 464
 Milzbrandbacillen, feinere Struktur. 194
 —, Gewöhnung an bakterizides Serum. 411
 —, Sporenbildung auf festen Nährböden. 192. 381
 —, — bei Sauerstoffmangel. 384
 —, — in flüssigen Nährmedien. 188
 —, Variation nach langer Aufbewahrung. 649
 —, Verhalten gegen Schütteln. 152
 —, Vorgänge bei der Sporenbildung. 383
 Milzbrandbacillensporen, Verhalten gegen Alkohol. 282
 Milzbrandserum, Wertbestimmung. 408
 Mundhöhle, Technik der bakteriologischen Untersuchung. 314
 Naganainfektion beim Meerschweinchen. 530
 Nivellierapparat neuer. 637
 Opisthofrema pulmonale v. Linst. in *Haliore australis*. 678
 Organextrakte, Wirkung bei akuten Infektionskrankheiten. 577. 708
 Pestbacillen, Morphologie. 348
 —, Verhalten auf festen Nährböden. 516
 —, Verhalten auf Milch. 521. 654
 —, Verhalten auf zuckerhaltigen Nährböden. 521
 —, Verhalten in Bouillonkulturen. 352. 513
 Piroplasmose bei Hunden, Immunität. 401
 Prototoxoidbildung, Versuche. 251
 Puerperalerkrankungen bei Meerschweinchen durch Streptokokken. 39
 Rinderpest, Immunisierungsversuche. 246
 Romanowsky-Nochtsche Chromatinfärbung, Vereinfachung. 308
 Rosahefe, Verhalten gegen Schütteln. 152
Sarcina lutea, Verhalten gegen Schütteln. 152
 Schütteln, Einfluß auf die Kulturen. 151
 Sera bakterizide, therapeutische Anwendung. 703
 — cytotoxische, Wirkung. 144
Staphylococcus pyogenes aureus, Verhalten gegen Alkohol. 262
 —, —, Verhalten gegen Schütteln. 152
Staphylokokken der Rinder, Vergleich mit denen des Menschen. 509
 — in tuberkulösen Herden der Rinder. 498
 Streptokokken, Agglutination. 598
 — bei Puerperalerkrankungen von Meerschweinchen. 25
 —, Differenzierung. 728
 —, Eigenschaften verschiedener Stämme. 453
 —, Immunisierung. 455. 597
 — kapseltragende, im Rachennasraum. 481
 —, Unterscheidung durch die Agglutination. 449. 597
 Sublimat, Wirkung beim Milzbrand immuner Tiere. 11
 Substanzen, präzipitogene bei Bakterien. 73
 Tetanusbacillen in Pockenlymphe. 48
 —, Nachweis in menschlichen Organen. 312
 —, Sporenbildung. 387
Tetrarhynchobothrium fluviatile v. Linst. in *Malapterurus electricus*. 683.
 Toxine, allmähliche Abschwächung. 1
 —, partielle Neutralisation. 2
 Toxinfrage, Standpunkt Bordets. 398
 Trinkwasseruntersuchung, Gärungsprobe bei 46°. 742
Trypanosoma Brucei, Infektionen von Meerschweinchen. 531
 —, Infektionsversuche. 668
Trypanosoma der Durine, Lebensgeschichte. 537
 — Elmassiani, Infektionsversuche. 674
 Tuberkelbacillen in Lymphe. 261
 — in tuberkulösen Herden der Rinder. 510
 —, Reinzüchtung mit der Formalinmethode. 626
 —, Verhalten gegen hohe Temperaturen in Milch. 459
 Typhusbacillen, Beeinflussung durch Salz. 21
 —, Konidienbildung. 21
 —, Unterscheidung von *Bact. coli commune* durch Kultur mit Glukose. 162. 326
 —, Unterscheidung von *Bact. coli commune* durch Kultur mit Weinsäure. 331
 —, Verhalten gegen normale Sera. 714
 —, Verhalten gegen Schütteln. 152
 Untersuchung bakteriologische der Mundhöhle. 314

Vaccine, Eigenschaften.	40.	195	Vaccine, wirkender Bestandteil.	40
—, Pathogenese.		207	Wachstumshemmung der Bakterien durch	
—, Vergleich des Organismus mit anderen			thermolabile Stoffwechselprodukte.	436
Protozoen.		202		

III. Verzeichnis der Abbildungen.

Abscesse dysenterische, Schnitte. (Taf.)	530	Filtrierapparat für Milch.	717
Anaëroben. Apparat f. Tropfenkulturen mit		Geißeln abgeworfene.	108
Phosphor.	633	Echinococcus steriler der Lunge beim	
—, Kulturgefäße. 299. 302. 303. 306. 307		Rinde. (Taf. I, Fig. 2, Taf. II, Fig. 3, 4.)	72
—, Plattenkulturen.	479	Immunisierungsschema einer Ziege für Sta-	
Anthobothrium tortum v. Linst.	682	phylokokken.	296
Bacillus helixoides Kit. (Taf.)	325	— eines Pferdes für Staphylokokken.	298
— pyocyaneus, anaërobe Kulturen.	636	Impftisch für Rinder.	157. 158
— —, Wachstumsformen. (Taf.)	177	Kulturapparat für Bestimmung der Ab-	
— septicaemiae anserum exsudativae Riemer.	643	scheidungsprodukte.	163
Bertia forcipata v. Linst.	681	Leitfähigkeit elektrische, Apparat zur Be-	
Botriocephalus ratticola v. Linst.	682	stimmung.	151
Bothriogaster variolaris Fuhrm.	60	Liquor cresoli saponatus, Schema der Frak-	
Carcinom bei Tieren, Schnitte. 240—243		tionsprodukte.	737
Chromatinkörper von Sarkom und Car-		— — —, Tabellen der Wirkung.	473. 474.
cinom. (Taf.)	566	Nivellierapparat neuer.	638. 639
Cittotaenia quadrata v. Linst.	680	Opisthotrema pulmonale v. Linst.	679
Defibrinierung sterile des Blutes, Apparat.		Streptokokken kapseltragende.	481
(Taf.)	160	Tetrarhynchobothrium fluviatile v. Linst.	683
Echinococcus fertiler der Lunge beim Rinde.		Vaccine, Schnitte mit Parasiten. (Taf. I bis	
(Taf. I, Fig. 1, 3.)	72	VII.)	212
Echinostomum armatum Fuhrm.	62		
— inerme Fuhrm.	63		

**THIS BOOK IS DUE ON THE LAST DATE
STAMPED BELOW**

**AN INITIAL FINE OF 25 CENTS
WILL BE ASSESSED FOR FAILURE TO RETURN
THIS BOOK ON THE DATE DUE. THE PENALTY
WILL INCREASE TO 50 CENTS ON THE FOURTH
DAY AND TO \$1.00 ON THE SEVENTH DAY
OVERDUE.**

MAY 5 1958
JAN 27 1960

Book Slip-15m-8, '52 (A2578a4) 458

102887	QR1
Z. f. bakt.	Z4
MAY 5 1958	Abt. 1:1

Z.f.

QR1

Z4

Abt. 1:1

V.37

102887



